

THESE DE DOCTORAT

UNIVERSITE BORDEAUX I

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES PHYSIQUES ET DE L'INGENIEUR

Spécialité : Astrophysique, Plasmas et Nucléaire

MORGANE DOS SANTOS

**Modélisation de la topologie des dépôts d'énergie
créés par un rayonnement ionisant à l'échelle
nanométrique dans les noyaux cellulaires et relation
avec les événements précoces radio-induits**

Encadrement de thèse : Carmen VILLAGRASA

Directeur de thèse : Sébastien INCERTI

Thèse soutenue le 2 octobre 2013 devant la commission d'examen formée de :

M ^r Moretto, Philippe	Professeur, U. Bordeaux 1/CENBG, Bordeaux.	Président
M ^{me} Bordage, Marie Claude	Chargée de recherche/HDR, CNRS/LPCE, Toulouse.	Rapporteur
M ^r Foray, Nicolas	Chargé de recherche/HDR, Inserm/CRCL, Lyon.	Rapporteur
M ^r Champion, Christophe	Professeur, U. Bordeaux 1/CENBG, Bordeaux.	Examineur
M ^r Baldacchino, Gérard	Ingénieur/chercheur, CEA, Saclay.	Examineur
M ^r Incerti, Sébastien	Directeur de recherche/HDR, CNRS/CENBG, Bordeaux.	Directeur

Recherches effectuées à : IRSN/PRP-HOM/SDE/LDRI, BP 17, 92262 Fontenay aux Roses Cedex.

Remerciements

En premier lieu je tiens à remercier Monsieur Philippe Moretto, professeur à l'université de Bordeaux 1, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

Ensuite, je remercie tout particulièrement Madame Marie-Claude Bordage, chargée de recherche au Laboratoire Laplace de Toulouse, ainsi que Monsieur Nicolas Foray, chargé de recherche au Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, d'avoir pris le soin d'examiner mon travail en qualité de rapporteur. Leurs remarques complémentaires ont contribué à l'amélioration de ce manuscrit.

Je remercie également Monsieur Gérard Baldacchino, ingénieur/chercheur au CEA de Saclay, et Monsieur Christophe Champion, professeur à l'université de Bordeaux 1, d'avoir participé à ce jury de thèse et examiné ce travail.

J'exprime ma reconnaissance à Monsieur Sébastien Incerti, chargé de recherche à l'université de Bordeaux, d'avoir dirigé cette thèse. Je le remercie de m'avoir fait profiter de ses compétences professionnelles dans le domaine des calculs Monte Carlo avec le code Geant4 et plus particulièrement Geant4-DNA. Ses conseils et ses remarques ont grandement contribué à l'avancement de ce travail.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Madame Carmen Villagrasa, ingénieur/chercheur à l'IRSN, qui a encadré ma thèse. Je la remercie pour la qualité de son encadrement, ses conseils et ses remarques qui m'ont guidés tout au long de ce travail, débuté en stage de master 2. Plus de trois années durant lesquelles Carmen a su me transmettre son expérience et ses connaissances. Grâce à son implication et ses conseils avisés, elle a très largement contribué au bon aboutissement de ce projet. Je lui exprime également toute ma reconnaissance pour sa disponibilité ainsi que la liberté et la confiance qu'elle m'a accordée, tout en gardant un regard critique sur ma démarche. Je la remercie également pour tout ce que cette collaboration m'a apporté d'un point de vue professionnel et personnel.

Enfin l'aboutissement de ces trois années est aussi l'occasion de remercier tous ceux qui ont fait mon quotidien au cours de cette « aventure ». J'adresse mes remerciements à l'ensemble des membres du Laboratoire de Dosimétrie des Rayonnements Ionisants (LDRI) : Marion, Céline, Christelle, Cyril, Davide, Marie-Anne, Jad, Laurent, Jacques, Francois T, Véronique, Danielle et François Q. Je remercie Monsieur Jean-Francois Bottolier-Depois, chef du Service de Dosimétrie Externe à l'IRSN, pour m'avoir offert la possibilité de réaliser cette thèse mais également Madame Isabelle Clairand, chef du LDRI, pour ses conseils, sa participation dans ce projet et sa relecture du manuscrit.

Je tiens à remercier plus particulièrement Marion Baumann, alias « Mama ». Je te remercie pour ta bonne humeur, ton soutien dans les bons et les moins jours et ton amitié. Je garderai en mémoire

nos virées shopping « à la vache noire » (où j'ai d'ailleurs acheté deux pieds gauches :-D), les frayeurs des parcs Astérix et Disney, nos virées touristiques (les caves alsaciennes par exemple...), et j'en passe ! J'ai trouvé bien plus qu'une collègue pendant ces trois années de thèse et je sais que notre amitié ne fait que commencer.

Je tiens à remercier Cyril, avec qui j'ai partagé mon bureau, et qui a su me « supporter » pendant la période de rédaction ! Avec Cyril nous avons aussi formé, on peut le dire, la « poisseuse Team » du LDRI. Entre les problèmes de température du bureau (la clim l'hiver et le chauffage l'été, normalement c'est l'inverse !), les pertes de données sur notre cher cluster acluu203... Nous avons du conjurer le sort en tapissant notre porte de trèfles à quatre feuilles ! En tout cas, pour tout ça, merci et surtout bon courage pour ta dernière année de thèse, que la force soit avec toi !

Merci également à Christelle et Céline pour les discussions que nous avons eues ensemble et leur sympathie. Je tiens également à remercier Mathieu et Jimmy pour leur bonne humeur et leur gentillesse lors de leurs passages dans le laboratoire.

Je voudrais également remercier chaleureusement mes amis et mes premiers remerciements vont vers Katia, ma coupine de toujours, qui a su m'apporter son soutien pendant ces trois années de thèse et qui m'a donné la joie de devenir marraine durant celle-ci. Ensuite je tiens également à remercier Loïc, Balou, Jeanine, Boris, Flavie et Jacques, les amis de la musique et de « l'équipe 3 » (et j'en oublie sûrement !). Je vous remercie pour votre soutien, vos encouragements et aussi pour vos fameuses questions « Alors la thèse ??? T'en es ou ??? Des simulations, mais c'est quoi ce truc ??? T'arrives à faire de l'ADN avec un ordinateur ?? ».

Enfin je terminerai par remercier ma famille. Tout d'abord Romain (ou Rominou pour les intimes), qui est devenu mon mari pendant cette thèse. Je te remercie pour ta patience, ton aide et ton soutien jour après jour. Je te remercie également pour la patience dont tu as fait preuve lors des dizaines de lectures du manuscrit pour traquer les « s » oubliés ainsi que lors de mes « répétitions » pour les conférences et la soutenance de thèse.

Je remercie ma sœur Jessica pour son soutien, ses coups de fil et ses encouragements ainsi que ces déplacements fréquents pour venir me voir. J'ai encore mal aux oreilles depuis tes hurlements lors de notre visite chez Mickey !

Je remercie également ma petite belle sœur, Fyne, pour son soutien et ses venues à Chatenay Malabry ainsi que mes beaux parents, Danielle et Michel.

Pour terminer, j'adresse ma plus profonde gratitude à mes parents, Kiki et Patou, sans lesquels rien de tout cela n'aurait été possible. Je les remercie pour leur soutien, leurs encouragements et de m'avoir permis de réaliser mes études. Ces quelques mots sont sans nul doute bien légers pour exprimer toute la reconnaissance que je leur porte.

Résumé

Les rayonnements ionisants sont connus pour induire des dommages critiques au sein de la matière biologique et spécialement au sein de l'ADN. Parmi ces dommages, les cassures doubles brins de l'ADN (DSB) sont considérées comme les principales responsables des effets létaux des rayonnements. Comprendre et prédire comment ces cassures sont créées et réparées dans les noyaux cellulaires demeure un défi dans la recherche en radiobiologie. Ce travail s'inscrit dans ce contexte, dans la modélisation des cassures double brin de l'ADN (DSB) à partir des dépôts d'énergie créés par l'irradiation au niveau intracellulaire. Le détail topologique au niveau nanométrique des dépôts d'énergie nécessaire à ce travail est obtenu par modélisation Monte Carlo à l'aide du code Geant4 et, en particulier son extension Geant4-DNA pour des processus à très faible énergie.

Les dommages étudiés étant ceux localisés dans l'ADN, le premier objectif de ce travail a été de réaliser une géométrie détaillée de celui-ci afin de l'implémenter dans les calculs Monte Carlo. Deux types de noyaux cellulaires, représentant un fibroblaste et un endothélium, ont été décrits afin d'évaluer l'influence de la densité d'ADN dans les résultats sur la topologie des dépôts pouvant donner lieu à des cassures de la molécule. Cette géométrie nous permet d'effectuer une première sélection des dépôts d'énergie pouvant contribuer aux cassures car situées sur la chaîne sucre-phosphate. Ces dépôts sont ensuite analysés à l'aide d'un algorithme de clustérisation de manière à les regrouper sous forme d'agrégats afin d'étudier leur localisation et complexité.

Néanmoins, dans cette étude, seule les interactions physiques entre les rayonnements ionisants et la cible sont modélisées, il n'est donc pas possible d'obtenir un nombre absolu de cassures de brins car cette modélisation n'inclue pas l'étape de création et de transport des radicaux libres pouvant donner lieu à des dommages indirects.

Ainsi, le but de ce travail était d'évaluer la dépendance relative des dommages radio-induits directs avec la densité d'ADN, la qualité du rayonnement, la morphologie du noyau ou encore la condensation de la chromatine. Les différentes modélisations réalisées ont permis de quantifier l'influence de ces différents paramètres dans le nombre et la complexité des dommages directs induits dans l'ADN, pouvant ensuite contribuer aux effets tardifs sur le devenir cellulaire.

Mots clés : Géométrie de l'ADN, dommages directs à l'ADN, modélisation Monte Carlo, structure de la trace, clustérisation.

Abstract

Ionizing radiations are known to induce critical damages on biological matter and especially on DNA. Among these damages, DNA double strand breaks (DSB) are considered as key precursor of lethal effects of ionizing radiations. Understand and predict how DNA double and simple strand breaks are created by ionizing radiation and repaired in cell nucleus is nowadays a major challenge in radiobiology research. This work presents the results on the simulation of the DNA double strand breaks produced from the energy deposited by the irradiation at the intracellular level. At the nanometric scale, the only method to accurately simulate the topological details of energy deposited on the biological matter is the use of Monte Carlo codes. In this work, we used the Geant4 Monte Carlo code and, in particular, the low energy electromagnetic package extensions, referred as Geant4-DNA processes.

In order to evaluate DNA radio-induced damages, the first objective of this work consisted in implementing a detailed geometry of the DNA on the Monte Carlo simulations. Two types of cell nuclei, representing a fibroblast and an endothelium, were described in order to evaluate the influence of the DNA density on the topology of the energy deposits contributing to strand breaks. Indeed, the implemented geometry allows the selection of energy transfer points that can lead to strand breaks because they are located on the backbone. Then, these energy transfer points were analyzed with a clustering algorithm in order to reveal groups of aggregates and to study their location and complexity.

In this work, only the physical interactions of ionizing radiations are simulated. Thus, it is not possible to achieve an absolute number of strand breaks as the creation and transportation of radical species which could lead to indirect DNA damages is not included. Nevertheless, the aim of this work was to evaluate the relative dependence of direct DNA damages with the DNA density, radiation quality, cell nuclei morphology or also chromatin condensation. The results presented in this work have allowed the quantification of the influence of these different parameters in the number and complexity of direct DNA damages which can then contribute to the late effects on cell fate.

Keywords: DNA geometry, Direct DNA damages, Monte Carlo simulations, Tracks structure, Clustering.

Table des Matières

Introduction générale	1
CHAPITRE I- ÉTAT DE L'ART	6
I.1 Les grandeurs dosimétriques et leurs limitations pour l'étude des effets biologiques 7	7
I.1.1 Historique	7
I.1.2 Les grandeurs de radioprotection	8
I.1.2.1 Les grandeurs physiques	9
I.1.2.1.1 La fluence Φ	9
I.1.2.1.2 La dose absorbée	9
I.1.2.1.3 La dose transférée (kerma)	10
I.1.2.1.4 Le transfert d'énergie linéique (TEL)	11
I.1.2.2 Les grandeurs de protection	13
I.1.2.2.1 L'Efficacité Biologique Relative (EBR)	14
I.1.2.2.2 Le facteur de qualité Q(L)	14
I.1.2.2.3 La dose équivalente	15
I.1.2.2.4 La dose efficace	15
I.1.2.3 Les grandeurs opérationnelles	16
I.1.2.3.1 L'équivalent de dose	17
I.1.2.3.2 L'équivalent de dose ambiant $H^*(d)$	17
I.1.2.3.3 L'équivalent de dose individuel $H_p(d)$	17
I.1.3 La prise en compte du caractère stochastique	17
I.2 La microdosimétrie	19
I.2.1 Développement historique de la microdosimétrie	19
I.2.2 Les notions et les grandeurs microdosimétriques	21
I.2.2.1 Notion d'événement dans le volume cible	21
I.2.2.2 L'énergie impartie	22
I.2.2.3 L'énergie spécifique	22
I.2.2.4 L'énergie linéale	22
I.2.3 Les distributions de probabilité associées aux grandeurs microdosimétriques fondamentales	23
I.2.4 Représentation des spectres microdosimétriques	25
I.3 La nanodosimétrie	27
I.3.1 Interaction des rayonnements ionisants au niveau intracellulaire	30
I.3.2 Induction des lésions : effets directs et indirects des rayonnements	31
I.3.2.1 Les effets directs	31
I.3.2.2 Les effets indirects	32
I.4 Rappels de biologie	33
I.4.1 L'ADN et sa compaction chez les eucaryotes	33
I.4.2 Les différents types de lésions de l'ADN	37
I.4.2.1 Les cassures de brin	37
I.4.2.2 Les dommages de bases	39
I.4.2.3 Les destructions des sucres	39
I.4.2.4 Les pontages	39

I.4.2.5	Les lésions multiples localisées	39
I.4.3	Détection des cassures double brin	40
I.5	Objectifs du travail de thèse	41
I.6	Références	43
CHAPITRE II-	LE CODE DE CALCUL.....	50
II.1	La méthode Monte Carlo	51
II.1.1	Base historique	51
II.1.2	Principe.....	52
II.1.3	Les codes Monte Carlo utilisés pour le transport des particules dans la matière...	53
II.2	Le code de calcul Geant4.....	58
II.2.1	Généralités [AGO03, ALL06].....	58
II.2.2	Architecture globale	60
II.2.3	Le transport dans Geant4	62
II.2.4	Bref aperçu de la physique dans Geant4	64
II.3	L'extension aux faibles énergies : Geant4-DNA	65
II.3.1	Description des interactions des particules chargées lourdes : proton, hydrogène et alpha	67
II.3.1.1	Sections efficaces inélastiques des protons	68
II.3.1.1.1	Ionisation.....	68
II.3.1.1.2	Excitation	74
II.3.1.2	Transfert de charge et stripping de l'hydrogène	75
II.3.1.3	Ionisation et excitation de l'hydrogène.....	75
II.3.1.4	Sections efficaces inélastiques pour les He, He ⁺ et He ²⁺	75
II.3.1.4.1	Ionisation et excitation	76
II.3.1.4.2	Transfert de charge.....	76
II.3.2	Description des interactions des particules chargées légères : les électrons	77
II.3.2.1	Interactions inélastiques	78
II.3.2.2	Collision élastique	80
II.3.2.3	Excitation vibrationnelle et rotationnelle et attachement électronique dissociatif.....	82
	Références.....	85
CHAPITRE III-	LE MODÈLE GÉOMÉTRIQUE.....	98
III.1	Etat de l'art des modèles géométriques existants	99
III.2	La géométrie dans Geant4	103
III.2.1	Le volume solide	103
III.2.2	Le volume logique	105
III.2.3	Le volume physique	105
III.3	Implémentation de la géométrie développée au cours de ce travail	107
III.3.1	Les différents éléments composants la géométrie	108
III.3.1.1	Le nucléosome.....	108
III.3.1.2	La fibre de chromatine	109
III.3.1.3	Les boucles de chromatine	110
III.3.2	Les noyaux cellulaires étudiés	111
III.3.3	Hétérochromatine et euchromatine	114
III.4	Le traitement des données : DBSCAN.....	115
III.4.1	Le choix de l'algorithme	116
III.4.2	DBSCAN [EST96]	117

III.4.3	Utilisation de DBSCAN.....	118
III.5	Références.....	122
CHAPITRE IV-	RÉSULTATS	126
IV.1	Simulation de l'irradiation.....	128
IV.1.1	Configuration des simulations.....	128
IV.1.2	Estimation du nombre de traces minimales à simuler.....	130
IV.1.3	Durée des simulations.....	130
IV.2	Influence de la densité d'ADN et du type d'irradiation sur les dommages directs radio-induits	132
IV.2.1	Quantification des candidats aux dommages directs.....	132
IV.2.1.1	Candidats aux dommages de type DSB.....	132
IV.2.1.2	Candidats aux dommages de type SSB.....	138
IV.2.1.3	Evolution du ratio DSB/SSB _{is}	143
IV.2.2	Complexité des dommages.....	147
IV.2.2.1	Complexité des candidates aux DSB	147
IV.2.2.2	Complexité des candidates aux dommages SSB.....	152
IV.2.3	Evaluation des rayons des clusters.....	156
IV.2.3.1	Rayon moyen des clusters	156
IV.2.3.2	Proportion des clusters DSB en fonction de leur dimension	157
IV.2.3.3	Dimension des clusters DSB en fonction de leur complexité	159
IV.2.4	Conclusions sur la section	160
IV.3	Evolution des dommages en fonction de la dose	161
IV.4	Etude de la relation EBR par rapport au TEL avec une approche nanométrique.....	165
IV.4.1	Probabilité d'intersection entre la trace des particules et la cible d'ADN	166
IV.4.2	Influence de la dimension du RMS choisi dans les paramètres de clusterisation	169
IV.4.3	Conclusion sur la section	173
IV.5	Influence de la forme de l'endothélium	174
IV.5.1	Quantification des dommages.....	175
IV.5.2	Complexité des dommages.....	177
IV.5.2.1	Complexité des DSB	177
IV.5.2.2	Complexité des SSB.....	178
IV.5.3	Conclusion sur la section	180
IV.6	Influence de la condensation de la chromatine	182
IV.6.1	Quantification des dommages.....	183
IV.6.1.1	Candidats aux dommages de type DSB.....	183
IV.6.1.2	Candidats aux dommages de type SSB.....	185
IV.6.2	Evolution des ratios DSB/SSB	189
IV.6.3	Complexité des dommages DSB	191
IV.6.4	Conclusion sur l'influence de la forme de la chromatine.....	194
IV.7	Références.....	196
	Conclusion générale.....	199
	Annexes	205
A-	Etude sur les rayons des clusters pour les irradiations alpha.....	206
A.1-	Rayon moyen des clusters	206
A.2-	Evolution de la proportion des clusters en fonction de leurs dimensions	207

B- Simulations dans les territoires chromosomiques isolés- Influence de la décondensation de la chromatine	209
B.1- Complexité des dommages SSB au sein des territoires chromosomiques du fibroblaste.....	209
B.2- Complexité des dommages au sein des territoires chromosomiques de l'endothélium.....	211
B.2.1- Complexité des DSB	211
B.2.2- Complexité des SSB	212
B.3- Influence de la décondensation de la chromatine suite aux simulations alphas.....	215
B.3.1- Quantification des dommages.....	215
B.3.2- Complexité des dommages DSB	216
B.3.3- Complexité des dommages SSB	218
Liste des publications et communications.....	221
Articles scientifiques	223

Liste des Figures

Figure I-1: Relation entre les différentes grandeurs de radioprotection de la CIPR103 [CIPR103].	9
Figure I-2 : Différence entre kerma et dose absorbée. dE_{tr} est l'énergie transférée par les photons au sein de la sphère et dE_a est l'énergie absorbée à l'intérieur de la sphère à partir d'électrons mis en mouvement soit à l'intérieur soit à l'extérieur de la sphère [CH097].	11
Figure I-3: Traces de proton et alphas obtenues avec Geant4-DNA. En rose sont représentés les dépôts d'énergie de la particule primaire (proton ou alpha) et en bleu les électrons secondaires issus de ces particules primaires.	12
Figure I-4 : Variation du ratio $\bar{\varepsilon}/m$ en fonction de la masse m du site étudié [ROS68].	18
Figure I-5 : Dose de 10 mGy obtenue à partir de Cobalt 60 (à gauche) et de neutrons de 1 MeV (à droite) [ROS79].	20
Figure I-6 : Spectre microdosimétrique représentant la distribution en fréquence de l'énergie linéale [PIH10].	26
Figure I-7 : Spectre microdosimétrique représentant la distribution en dose de l'énergie linéale [PIH10].	26
Figure I-8 : Evolution historique des tailles des cibles biologiques pour l'étude des effets biologiques [GOO06].	28
Figure I-9 : Evénements et points de transferts dans un volume cible.	28
Figure I-10 : Cadre de la dosimétrie [PIH10].	29
Figure I-11 : Les différentes étapes de l'interaction des rayonnements dans la matière biologique.	30
Figure I-12 : Structure de l'ADN [WEB01, WEB02].	34
Figure I-13 : Nucléosomes [WEB03].	35
Figure I-14 : Compaction de l'ADN dans les cellules humaines [WEB03].	36
Figure I-15 : Signalisation des cassures doubles brin de l'ADN détectés lors des expériences de radiobiologie avec des neutrons (à droite) et des photons (à gauche).	40
Figure II-1 : Schéma de principe du code PARTRAC et interactions entre les différents modules [FRI11].	57
Figure II-2 : Structure générale du code Geant4 [GEA11].	61
Figure II-3 : Trajectoire d'une particule.	63
Figure II-4 : Processus physiques dérivant de la classe G4VProcess [GEA11].	64
Figure II-5 : Sections efficaces totales d'ionisation des protons dans l'eau liquide obtenues en utilisant le modèle de Rudd ($E < 500$ keV) et la première approximation de Born ($E > 500$ keV) [INC10].	73
Figure II-6 : Sections efficaces totales d'ionisation et d'excitation des alphas dans l'eau liquide pour He^{2+} (ligne continue), He^+ (ligne en tirets) et He^0 (ligne en tirets et points) [INC10].	76
Figure II-7 : Sections efficaces pour les transferts de charge des alphas dans l'eau liquide pour He^{2+} (ligne continue), He^+ (ligne en tirets) et He^0 (ligne en tirets et points) [INC10].	77

Figure II-8 : Sections efficaces totales d'ionisation des électrons dans l'eau liquide [INC10].	79
Figure II-9 : Sections efficaces totales d'excitation des électrons dans l'eau liquide [INC10].	79
Figure II-10 : Sections efficaces élastiques des électrons dans l'eau liquide en fonction de l'énergie des électrons incidents comparées à des données expérimentales obtenues dans la vapeur d'eau et aux recommandations de l'ICRU 77 [INC10].	81
Figure II-11 : Sections efficaces des différents processus d'interaction disponible dans Geant4-DNA pour la simulation des électrons dans l'eau liquide.	83
Figure III-1 : Géométrie utilisée par Charlton et al. [CHA89].	100
Figure III-2 : Nucléosome implémenté par Michalik et Begusova [MIC94].	100
Figure III-3 : Noyaux cellulaires développés par Nikjoo et Girard [NIK11] (à gauche) et par Friedland et al [FRI11] (à droite).	102
Figure III-4 : Géométrie implémentée par Bernal et al [BER11].	102
Figure III-5 : Solides types utilisés pour l'implémentation de la géométrie [GEA11].	104
Figure III-6 : Les trois opérations booléennes possibles dans Geant4 : union, soustraction et intersection de solides.	105
Figure III-7 : Etapes nécessaires à la définition d'un volume géométrique dans le fichier DetectorConstruction.cc.	107
Figure III-8 : Représentation d'un nucléosome. Le cylindre bleu correspond à l'histone et les brins rouge et blanc à la molécule d'ADN à l'intérieur desquels les bases de l'ADN sont implémentées.	109
Figure III-9 : Fibre de chromatine de forme solénoïde contenant 90 nucléosomes.	110
Figure III-10 : Boucle de chromatine formée de 4 bâtonnets de chromatine (à gauche) et fleur de chromatine composée de 7 boucles (à droite).	111
Figure III-11 : Noyau de la cellule endothéliale (à gauche) et de la cellule fibroblaste (à droite). Chaque noyau est divisé en 46 territoires chromosomiques de forme cubique, remplis avec des boucles pour l'endothélium et des fleurs pour le fibroblaste.	112
Figure III-12 : Différents niveaux de compaction de l'ADN et son organisation dans les noyaux cellulaires.	114
Figure III-13 : Territoire chromosomique identique du noyau de fibroblaste mais rempli soit avec des nucléosomes placés de manière aléatoire (décondensée) soit avec des boucles de chromatine (condensée).	115
Figure III-14 : Une idée intuitive de la densité [EST96].	117
Figure III-15 : Principe de la clusterisation avec DBSCAN [WEB01].	118
Figure IV-1 : Configuration de la simulation, les particules primaires sont tirées parallèlement à l'axe z.	128
Figure IV-2 : Evolution et comparaison du nombre de DSB par particule et par μm dans les deux types de noyaux cellulaires.	136
Figure IV-3 : Spectres des électrons secondaires obtenus suite au passage de protons de 1 MeV (à gauche) et au passage d'alphas de 25 MeV (à droite).	137
Figure IV-4 : $\text{SSB}_{\text{is}} / \text{particule} / \mu\text{m}$ en fonction du TEL dans les deux types de noyaux cellulaires.	141
Figure IV-5 : $\text{SSB}_{\text{cplx}} / \text{particule} / \mu\text{m}$ en fonction du TEL dans les deux types de noyaux cellulaires.	141

Figure IV-6 : Comparaison des ratios DSB/SSB _{is} pour des simulations protons et alphas réalisées au sein des deux noyaux cellulaires.	145
Figure IV-7: Evolution des ratios DSB/SSB _{tot} en fonction du TEL des protons et comparaison avec les données issues du code PARTRAC [FRI03].	146
Figure IV-8 : Evolution des rayons moyens des clusters en fonction de l'énergie des protons initiaux dans l'endothélium.	158
Figure IV-9 : Evolution des rayons moyens des clusters en fonction de l'énergie des protons initiaux dans le fibroblaste.	158
Figure IV-10 : Evolution du nombre de DSB par Gray et par micromètre pour les protons. Les carrés correspondent aux résultats obtenus dans l'endothélium et les losanges ceux obtenus dans le fibroblaste. En orange sont représentés les traces traitées ensemble et en vert celles traitées de manière indépendante.	163
Figure IV-11 : Evolution des EBR en fonction du TEL pour proton, alpha et néon [JAK08].	165
Figure IV-12 : Pourcentage d'interaction dans l'ADN au sein des deux noyaux cellulaires et pour les deux types d'irradiations en fonction du TEL.	168
Figure IV-13 : Evolution du nombre de clusters par proton et par micromètre en fonction du TEL pour les trois rayons choisis pour la clusterisation.	171
Figure IV-14 : Evolution du nombre de clusters par alpha et par micromètre en fonction du TEL pour les trois rayons choisis pour la clusterisation.	171
Figure IV-15 : Nouveau noyau de type endothélium ayant une épaisseur constante (2 µm) et rempli avec des territoires chromosomiques de forme rectangle.	174
Figure IV-16 : Comparaison du nombre de DSB/p/µm en fonction de la taille des clusters entre les deux noyaux de type endothélium. Les symboles triangulaires sont utilisés pour le noyau de forme ellipsoïdale tandis que les symboles carrés sont utilisés pour le noyau cylindrique de 2 µm d'épaisseur.	177
Figure IV-17 : Comparaison du nombre de SSB/p/µm en fonction de la taille des clusters entre les deux noyaux de type endothélium. Les symboles triangulaires sont utilisés pour le noyau de forme ellipsoïdale tandis que les symboles carrés sont utilisés pour le noyau cylindrique de 2 µm d'épaisseur.	179
Figure IV-18 : Evolution des DSB/p/µm en fonction du TEL des protons pour les quatre types de territoires chromosomiques.	184
Figure IV-19 : Nombre de SSB isolées par proton et par micromètre en fonction du TEL.	188
Figure IV-20 : Nombre de SSB complexes par proton et par micromètre en fonction du TEL.	188
Figure IV-21 : Evolution des ratios DSB/SSB _{is} obtenus suite à des simulations avec des protons.	190
Figure IV-22 : Proportion des clusters en fonction de leur complexité pour des protons des 0.5 MeV obtenus dans les deux territoires chromosomiques du fibroblaste.	194
Figure A-1 : Evolution de la proportion de clusters en fonction de leur taille dans l'endothélium.	207
Figure A-2 : Evolution de la proportion de clusters en fonction de leur taille dans le fibroblaste.	208

Liste des Tableaux

Tableau I-1 : Facteurs de pondération liés à la nocivité des rayonnements.	15
Tableau I-2 : Facteurs de pondération tissulaire w_T	16
Tableau I-3 : Différentes reactions chimiques prises en compte dans la modélisation en fonction de l'état électronique.	32
Tableau I-4 : Reactions chimiques modélisées dans le cadre du code Geant4.	33
Tableau I-5 : Cassures simple brin de l'ADN.	38
Tableau I-6 : Cassures double brin de l'ADN.	38
Tableau II-1 : Liste des codes généralistes de transport de particules de type Monte Carlo [NIK06].	54
Tableau II-2 : Liste des codes de calcul Monte Carlo appropriés pour les modélisations biophysiques à l'échelle moléculaire [NIK06].	56
Tableau II-3 : Energie d'ionisation des différentes couches de la molécule d'eau.	71
Tableau II-4 : Energie d'excitation des différentes couches de la molécule d'eau.	71
Tableau II-5 : Récapitulatif des processus physiques et leurs modèles associés utilisés pour les simulations dans Geant4-DNA.	84
Tableau III-1 : Récapitulatif de la composition des territoires chromosomiques dans les deux noyaux cellulaires.	113
Tableau III-2 : Les trois catégories de dommages à l'ADN considérées dans notre étude.	120
Tableau IV-1 : Parcours moyen des protons dans l'eau liquide.	129
Tableau IV-2 : Parcours moyen des alphas dans l'eau liquide.	129
Tableau IV-3 : Quantification des DSB par proton et par micromètre obtenus au sein des deux noyaux cellulaires.	133
Tableau IV-4 : Quantification des DSB par alpha et par micromètre obtenus au sein des deux noyaux cellulaires.	134
Tableau IV-5 : Quantification des DSB par proton dans les deux noyaux cellulaires.	135
Tableau IV-6 : Quantification des DSB par alpha dans les deux noyaux cellulaires.	135
Tableau IV-7 : Différence au niveau du nombre de DSB entre les irradiations protons et alphas pour un même TEL et pour chaque noyau cellulaire (en %).	138
Tableau IV-8 : Quantification des SSB isolées par proton et par micromètre obtenues au sein des deux noyaux cellulaires.	139
Tableau IV-9 : Quantification des SSB complexes par proton et par micromètre obtenues au sein des deux noyaux cellulaires.	139
Tableau IV-10 : Quantification des SSB isolées par alpha et par micromètre obtenues au sein des deux noyaux cellulaires.	140
Tableau IV-11 : Quantification des SSB complexes par alpha et par micromètre obtenues au sein des deux noyaux cellulaires.	140
Tableau IV-12 : Différence au niveau du nombre de SSB, isolées ou complexes, entre les irradiations protons et alphas pour un même TEL et pour chaque noyau cellulaire (en %).	143

Tableau IV-13 : Evolution des ratios DSB/SSB suite à une irradiation avec des protons.....	144
Tableau IV-14 : Evolution des ratios DSB/SSB suite à une irradiation avec des alphas.	144
Tableau IV-15 : DSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans l'endothélium.	148
Tableau IV-16 : DSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le fibroblaste.	149
Tableau IV-17 : DSB/α/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans l'endothélium.	150
Tableau IV-18 : DSB/α/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le fibroblaste.	150
Tableau IV-19 : SSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans l'endothélium.	153
Tableau IV-20 : SSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le fibroblaste.	154
Tableau IV-21 : SSB/α/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans l'endothélium.	155
Tableau IV-22 : SSB/α/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le fibroblaste.	155
Tableau IV-23 : Rayon moyen des clusters en fonction du type cellulaire et du TEL des protons. ..	157
Tableau IV-24 : Evolution du rayon moyen (nm) des DSB en fonction de leurs complexités dans le noyau du fibroblaste.	159
Tableau IV-25 : Nombre de traces nécessaires pour obtenir 1 Gy dans les noyaux cellulaires.	162
Tableau IV-26 : DSB/Gy/μm en fonction du type cellulaire et du traitement des traces séparément ou ensemble.	163
Tableau IV-27 : Pourcentage d'interaction dans l'ADN pour les simulations proton.	167
Tableau IV-28 : Pourcentage d'interaction dans l'ADN pour les simulations alpha.	167
Tableau IV-29 : Evolution du nombre de clusters total par proton et par μm en fonction du rayon du cluster obtenus dans l'endothélium et le fibroblaste.	170
Tableau IV-30 : Evolution du nombre de clusters total par alpha et par μm en fonction du rayon du cluster obtenus dans l'endothélium et le fibroblaste.	170
Tableau IV-31 : Volumes et dimensions des territoires chromosomiques implémentés dans le nouveau noyau d'endothélium de forme cylindrique.	175
Tableau IV-32 : DSB/p/μm en fonction du TEL dans les deux noyaux d'endothélium.	176
Tableau IV-33 : SSB/p/μm en fonction du TEL dans les deux noyaux d'endothélium.	176
Tableau IV-34 : DSB/p/μm pour les différentes tailles de clusters en fonction du TEL des protons.	178
Tableau IV-35 : SSB/p/μm pour les différentes tailles de clusters en fonction du TEL des protons.	180
Tableau IV-36 : DSB/p/μm dans les deux territoires chromosomiques du fibroblaste.	183
Tableau IV-37 : DSB/p/μm dans les deux territoires chromosomiques de l'endothélium.	184
Tableau IV-38 : SSB/p/μm dans les deux territoires chromosomiques du fibroblaste.	185
Tableau IV-39 : SSB/p/μm dans les deux territoires chromosomiques de l'endothélium.	186

Tableau IV-40 : Décomposition de la quantité de dommages SSB dans les territoires chromosomiques du fibroblaste.	187
Tableau IV-41 : Décomposition de la quantité de dommages SSB dans les territoires chromosomiques de l'endothélium.	187
Tableau IV-42 : Evolution des ratios DSB/SSB en fonction du TEL des protons dans les territoires chromosomiques du fibroblaste.	189
Tableau IV-43 : Evolution des ratios DSB/SSB en fonction du TEL des protons dans les territoires chromosomiques de l'endothélium.	190
Tableau IV-44 : DSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les fibres de chromatine.	192
Tableau IV-45 : DSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les nucléosomes.	193
Tableau A-1 : Rayon moyen des clusters de type SSB et DSB au sein des deux noyaux cellulaires. .	206
Tableau B-2 : SSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les fibres de chromatine.	209
Tableau B-3 : SSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les nucléosomes.	210
Tableau B-4 : DSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les fibres de chromatine. .	211
Tableau B-5 : DSB/p/μm et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les nucléosomes.	212
Tableau B-6 : SSB/p/μm et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les fibres de chromatine. .	213
Tableau B-7 : SSB/p/μm et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les nucléosomes.	214
Tableau B-8 : DSB/α/μm dans le territoire chromosomique du fibroblaste et de l'endothélium. ...	215
Tableau B-9 : SSB/α/μm dans le territoire chromosomique du fibroblaste.	216
Tableau B-10 : DSB/α/μm et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les fibres de chromatine.	216
Tableau B-11 : DSB/α/μm et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les nucléosomes.	217
Tableau B-12 : DSB/α/μm et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les fibres de chromatine....	217
Tableau B-13 : DSB/α/μm et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les nucléosomes.....	218
Tableau B-14 : SSB/α/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les fibres de chromatine.	218
Tableau B-15 : SSB/α/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les nucléosomes.	219

Tableau B-16 : SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$ et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les fibres de chromatine....	219
Tableau B-17 : SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$ et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les nucléosomes (ENDO TC_N).	220

Glossaire

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

BioQuaRT : Biologically weighted quantities in radiotherapy

bp : paire de bases

CERN : Centre Européen de Recherche Nucléaire

CIPR : Commission International de Protection Radiologique

Cluster : grappe

DSB : cassure double brin

EBR : Efficacité Biologique Relative

EGS : Electron Gamma Shower

ETRAN : Electron TRANsport

Geant : GEometry ANd Tracking

ICRP : International Commission on Radiobiological Protection

ICRU : International Commission on Radiation Units and measure

LDB : Laboratoire de Dosimétrie Biologique

LDRI : Laboratoire de Dosimétrie des Rayonnements Ionisants

MC : Monte Carlo

MCNP : Monte Carlo N-Particles Transport

MCNPX : Monte Carlo N-Particles Transport eXtended

MOCA : Monte Carlo simulator code

NHEJ : Non Homologous End Joining

OREC : Oak Ridge Electron transport Code

PARTRAC : PARTicule TRACKs

PENELOPE : PENetration & Energy LOSS of Positrons & Electrons in matter

PFGE : électrophorèse en champ pulsé

PITS : Positive Ion Track Structure

PRP-HOM : Pole RadioProtection Homme

RMS : Root Mean Square

ROSIRIS : RadiobiOlogie des Systèmes Intégrés pour l'optimisation des traitements utilisant des rayonnements ionisants et évaluation des RISques associés

SDE : Service de Dosimétrie Externe

SRBE : Service de RadioBiologie et d'Epidémiologie

SSB : cassure simple brin

TEL : Transfert d'Energie Linéique

Introduction générale

L'étude du mécanisme de formation des dommages biologiques produits par les rayonnements ionisants demeure un sujet majeur dans le domaine de la recherche en radiobiologie. En effet, les effets des rayonnements sur la santé ne sont toujours pas entièrement compris, du fait de la diversité des molécules impliquées (ADN, espèces radicalaires) et des différents mécanismes mis en jeu lors de la réponse biologique. Ces différents mécanismes, physiques, chimiques et biologiques, se mettent en place à des échelles de temps et d'espace différentes et par conséquent rendent la problématique particulièrement complexe. De plus, l'effet d'un rayonnement sur la matière biologique dépend de plusieurs paramètres comme la nature de l'irradiation (type de particule, dose, débit de dose, énergie, etc.), la nature du milieu biologique irradié (type de cellule, phase du cycle cellulaire, etc.) ou encore l'environnement cellulaire (effet de l'oxygène ou effet de proximité (bystander)). Ainsi, comprendre et prédire comment ces effets sont induits dans la matière et quels en sont les impacts est tout l'enjeu de ce domaine de recherche.

Dans ce contexte, l'IRSN a initié un programme de recherche à long terme, le projet ROSIRIS (Radiobiologie des Systèmes Intégrés pour l'optimisation des traitements utilisant des rayonnements ionisants et évaluation des risques associés), qui vise à améliorer les connaissances des effets secondaires des rayonnements utilisés en radiothérapie et comprendre les mécanismes biologiques qui induisent ces risques pour mieux les prévenir. ROSIRIS est donc un projet transdisciplinaire dans lequel travaillent en collaboration des radiopathologues, des physiciens et des radiobiologistes.

La stratégie globale de ce projet est de tenter d'établir des liens entre la modélisation biophysique des événements précoces radio-induits et leurs conséquences tardives au niveau cellulaire et tissulaire afin de prédire les complications sur les organes à risque. A terme, ce projet devrait permettre l'amélioration des connaissances des effets secondaires des rayonnements ionisants, l'optimisation et la personnalisation des protocoles de radiothérapie mais également l'ouverture de nouvelles pistes de traitement.

Pour mener à bien ce projet, celui-ci est divisé en trois axes de recherche. Le premier axe, dans lequel s'inscrit tout particulièrement ce travail de thèse, est consacré aux modélisations biophysiques des événements précoces radio-induits et vise, à terme, à corréler les résultats des simulations Monte Carlo sur la topologie des dépôts d'énergie au niveau de l'ADN pour différentes qualités de rayonnements aux cassures double brin de l'ADN visibles par une technique d'immunofluorescence. Les axes 2 et 3 sont consacrés à l'étude des mécanismes radiopathologiques des irradiations et tentent de trouver des corrélations entre les effets biologiques précoces et les effets biologiques tardifs. L'objectif d'une telle approche est de pouvoir remonter aux effets biologiques macroscopiques, comme la mort cellulaire (axe 2 et 3 du projet pour les effets non cancers), à partir des effets biologiques obtenus à l'échelle nanométrique (axe 1).

Concernant l'étude des dommages biologiques, les courbes de survie cellulaire ont été largement utilisées de manière à caractériser l'effet biologique d'une dose de rayonnement (relation dose-effet). Cette méthode consiste à quantifier les cellules qui ont encore la capacité de proliférer après avoir reçu une certaine dose de rayonnement. Une courbe de survie cellulaire est la représentation graphique du taux de survie en fonction de la dose pour une espèce cellulaire donnée et dans des conditions expérimentales déterminées. Néanmoins, cette approche, qualifiée de macroscopique, ne permet pas d'avoir accès à la réponse moléculaire de la cellule, et plus particulièrement aux dommages de l'ADN qui sont l'élément clé pour la régulation de la croissance et la différenciation des cellules.

En effet, depuis de nombreuses années, il a été mis en évidence que l'ADN est une cible privilégiée de l'inactivation cellulaire provoquée par les rayonnements ionisants [GOO94, OLI98]. Les dépôts d'énergie localisés dans l'ADN peuvent conduire à la formation de dommages critiques tels que les dommages de base ou les cassures de brin (simple ou double). Néanmoins, parmi ces dommages se sont les cassures double brin (CDB ou, plus couramment utilisé, DSB (Double Strand Breaks)) qui sont considérées comme les lésions les plus critiques pouvant conduire à la perte de l'information génétique, en raison de mauvaises réparations, et induire ainsi des aberrations chromosomiques voire la mort cellulaire [FRA81].

Grâce aux expériences de radiobiologie menées depuis ces trente dernières années, de nombreuses études ont été dédiées à la quantification et à la visualisation de ce type de lésions. Des mesures expérimentales de cassures double brin par électrophorèse en champ pulsé (PFGE) dans des fibroblastes et des cellules de hamster (V79-4) ont montré une augmentation linéaire du nombre de DSB avec la dose absorbée [BOT97, FRA99]. D'autres études ont également montré une relation entre le transfert d'énergie linéique (TEL) des particules et la complexité des dommages : des particules ayant des TEL élevés produisent plus de lésions complexes, plus difficilement réparables que des particules avec des TEL faibles [NIK01, LEL05]. D'autres études ont également été consacrées à l'investigation des dommages de type DSB et leurs réparations dans des régions de densité d'ADN différentes dans le noyau cellulaire [FAL10, JAK11]. Ces études ont mis en évidence le rôle important de la structure de la chromatine sur le mouvement des DSB [FAL10] ainsi que la relocalisation de ces dommages en périphérie de la région de l'hétérochromatine conduisant à une décondensation locale de celle-ci [JAK11].

Dans un premier temps, les phénomènes biologiques radio-induits ont été caractérisés par rapport aux grandeurs dosimétriques classiques qui sont utilisées en radioprotection ou radiothérapie, en particulier la dose absorbée. Ainsi, ***dans le premier chapitre de cette thèse***, nous montrerons en quoi ces grandeurs sont insuffisantes pour l'étude des effets des rayonnements ionisants au niveau cellulaire et intracellulaire. En effet, ces grandeurs ne reposent que sur des moyennes qui ne reflètent pas l'inhomogénéité des dépôts d'énergie au niveau microscopique. La détermination de possibles corrélations entre les traces initiales des particules et les effets cellulaires tardifs

nécessite une description détaillée des dommages précoces de l'ADN dus à ces dépôts d'énergie. C'est pourquoi, dès les années 60, de nouvelles grandeurs ont été introduites de manière à prendre en compte le caractère stochastique du dépôt de dose au niveau micro ou nanométrique et pouvoir être en mesure d'étudier leurs conséquences dans les mécanismes de la réponse biologique, ce sont les grandeurs microdosimétriques. Ainsi, ce chapitre sera également consacré à la description de la microdosimétrie et de la nanodosimétrie qui sont deux formalismes complémentaires ; la nanodosimétrie étant la limite de la microdosimétrie pour des volumes si faibles qu'on a affaire aux transferts individuels et donc à l'étude proprement dite de la structure de la trace. Les dommages nous intéressant dans ce travail étant ceux induits au sein de la molécule d'ADN, il nous a paru nécessaire de consacrer une section de ce chapitre à quelques rappels de biologie liés aux connaissances actuelles sur la composition et l'arrangement dans l'espace des différents constituants de l'ADN qui seront utilisés comme base pour développer notre modèle géométrique simplifié. Nous mettrons en évidence, d'une part, la conformation et l'organisation de l'ADN au sein des noyaux cellulaires et, d'autre part, les lésions pouvant être induites par les rayonnements ionisants au sein de celui-ci.

Du fait de la nature stochastique de ces traces de particules, nous verrons que les codes de calcul Monte Carlo demeurent la seule méthode permettant de simuler de manière précise les dépôts d'énergie induits par les radiations dans de très petites structures biologiques comme l'ADN qui nous intéresse ici. Ainsi, **le second chapitre de cette thèse** sera dédié à la présentation du code de calcul utilisé pour réaliser les modélisations (Geant4) et plus spécifiquement aux processus Geant4-DNA qui sont une extension de ce code pour les simulations à basse énergie. En effet, les processus Geant4-DNA permettent de simuler pas à pas l'interaction des particules dans la matière au niveau nanométrique et plus particulièrement le parcours des électrons secondaires créés, principaux responsables des dépôts d'énergie dans l'ADN, jusqu'à leur thermalisation.

Dans ce contexte de simulation, il s'avère nécessaire d'introduire une géométrie détaillée de l'ADN au sein du code de calcul utilisé pour les modélisations et c'est ce que nous présenterons dans le **troisième chapitre**. Cette géométrie a été implémentée directement dans le code de calcul et a été utilisée comme cible pour nos modélisations. La combinaison de la simulation de la trace complète des particules et de notre modèle géométrique nous permet de déterminer le type de dommages (dommages de base, cassures de brins) induits dans l'ADN, la complexité ainsi que la localisation de ces lésions à l'échelle nanométrique. Ce chapitre présentera également l'outil utilisé pour analyser les dommages induits au sein de notre géométrie qui est un algorithme de clusterisation de type DBSCAN.

Enfin, **le dernier chapitre de cette thèse** présentera les résultats obtenus suite aux modélisations réalisées au sein de notre géométrie. Grâce à l'implémentation du génome complet de deux noyaux cellulaires, il nous a été possible d'analyser les dommages induits dans l'ADN à l'échelle du noyau, c'est-à-dire à l'échelle micrométrique. Ainsi, l'analyse des résultats obtenus reposera sur une vision multi-échelle (nano - micrométrique) des dommages radio-induits sur l'ADN.

Références

[BOT97]

S.W. Botchway, D.L. Stevens, M.A. Hill, T.J. Jenner, P. O'Neill.

Induction and rejoining of DNA double strand breaks in Chinese hamster V79-4 cells irradiated with characteristics Aluminium K and copper L ultrasoft X-rays.

Radiation Research 148 (1997) 317-324.

[FAL10]

M. Falk, E. Lukasova, S. Kozubek

Higher order chromatin structure in DSB induction, repair and misrepair

Mutation Research 704 (2010) 88-100.

[FRA81]

D. Frankenberg, M. Frankenberg-Schwager, D. Blocher, R. Harbich.

Evidence for DNA double strand breaks as the critical lesions yeast cells irradiated with sparsely or densely ionizing radiation under oxic or anoxic conditions.

Radiation Research 88 (1981) 524-532.

[FRA99]

D. Frankenberg, H.J. Brede, U.J. Schrewe, C. Steinmetz, M. Frankenberg-Schwager, G. Kasten, E. Pralle.

Induction of DNA double strand breaks by H and He ions in primary human skin fibroblasts in the LET range of 8-124 keV/μm.

Radiation Research 151 (1999) 540-549.

[GOO94]

D.T. Goodhead.

Initial events in the cellular effects of ionizing radiations: clustered damage in DNA.

International Journal of Radiation Biology 65 (1994) 7-17.

[JAK11]

B. Jakob, J. Splinter, S. Conrad, K. Voss, D. Zink, M. Durante, M. Lobrich G. Taucher-Scholz,

DNA double strand breaks in heterochromatin elicit fast repair protein recruitment, histone H2AX phosphorylation and relocation to euchromatine

Nucleic Acids Research 39 (2011) 6489-6499.

[LEL05]

C. Leloup, G. Garty, G. Assaf, A. Cristovao, A. Breskin, R. Chechik, S. Shchemelinin, T. Paz-Elizur, Z. Livneh, R.W. Schulte, V. Bashkirov, J.R. Milligan, B. Grosswendt.

Evaluation of lesion clustering in irradiated plasmid DNA.

International Journal of Radiation Biology 81 (2005) 41-54.

[NIK01]

H. Nikjoo, P. O'Neill, W.E. Wilson, D.T. Goodhead.

Computational approach for determining the spectrum of DNA damage induced by ionizing radiation.

Radiation Research 156 (2001) 577-583.

[OLI98]

P. Olive.

The role of DNA single and double strand breaks in cell killing by ionizing radiation.

Radiation Research 150 (1998) S42-S51.

CHAPITRE I-ÉTAT DE L'ART

I.1 Les grandeurs dosimétriques et leurs limitations pour l'étude des effets biologiques

I.1.1 Historique

L'utilisation des rayonnements ionisants dans de nombreux domaines d'activité tels que la médecine, la recherche ou encore l'industrie, n'a fait que croître depuis la découverte des rayons X en 1895 par W. Roentgen puis celle de la radioactivité un an plus tard par H. Becquerel [BED02]. Toutefois, leurs premières utilisations ne concernaient que le domaine médical et plus particulièrement la radioscopie et la radiologie, avec la première radiographie d'une main en décembre 1895. Dès lors, l'utilisation des rayonnements pour les applications médicales s'est développée extrêmement rapidement.

En effet, un an après la découverte des rayons X, le premier traitement par radiothérapie était réalisé à Lyon pour le traitement d'un cancer de l'estomac. Quelques années plus tard, en 1898, suite à la découverte du Radium par Pierre et Marie Curie, celui-ci a également été utilisé pour le traitement de tumeurs en plaçant une source radioactive soit dans la tumeur soit à proximité de celle-ci. Ceci marqua les premiers pas de la curiethérapie. Depuis, les études n'ont pas cessé d'évoluer et ont acquis une nouvelle dimension avec les problèmes posés par la radioprotection des patients vis-à-vis des rayonnements ionisants.

En effet, dès les premières utilisations des rayonnements dans le domaine médical, les médecins prennent conscience des effets délétères des rayonnements sur les tissus biologiques en observant l'apparition des premières lésions cutanées. Ils constatent que ces rayonnements permettent de détruire les cellules tumorales mais également les cellules saines autour de la tumeur, d'où la nécessité d'avoir des rayonnements thérapeutiques ciblés, sélectifs et bien dosés. Les premières recommandations concernant l'exposition aux rayons X ont ainsi été publiées dès décembre 1896 par W. Fuchs qui introduisait déjà les concepts de distance et de durée d'exposition.

Dès lors, il est donc devenu important de pouvoir caractériser les rayonnements et de définir les grandeurs et unités de mesure de la radioactivité et des rayonnements ionisants ainsi que leurs effets sur la matière. La première commission chargée de ceci a ainsi été créée en 1925 lors du Congrès International de Radiologie : l'ICRU (International Commission on Radiation Units and Measurements). Trois ans après sa création on définit alors la première unité standard permettant de quantifier l'exposition à un rayonnement X ou gamma : le Roentgen (R). Cette grandeur représente la dose d'exposition due à un rayonnement électromagnétique exprimée à partir de la capacité d'ionisation des rayons X ou gamma dans l'air. 1 Roentgen est la quantité de rayonnement X ou gamma qui engendre $2,08 \cdot 10^9$ paires d'ions dans 1 cm^3 d'air dans des conditions normales de

température et de pression, ce qui correspond à une unité de charge électrostatique (esu). Dans le Système International (SI), la dose d'exposition s'exprime en coulomb par kilogramme :

$$1 \text{ R} = 2,58.10^{-4} \text{ C.kg}^{-1} \quad (\text{I.1})$$

Néanmoins, cette grandeur ne permettait pas de rendre compte de l'effet des rayonnements dans les tissus. En conséquence, une nouvelle unité permettant de quantifier la dose de radiation absorbée par une cible a été introduite : le rad (Radiation Absorbed Dose). Cette grandeur fut définie lors du congrès de l'ICRU en 1953 comme le quotient entre l'énergie des rayonnements ionisants, quelle que soit leur nature, absorbée par un élément de volume et la masse de ce volume. Le rad est l'ancienne unité de la dose absorbée dans le système CGS (centimètre, gramme, seconde). Lors de l'abandon du système CGS au profit du système MKS (mètre, kilo, seconde) en 1975, cette unité a été abandonnée au profit du gray qui est devenue l'unité de référence :

$$100 \text{ rads} = 1 \text{ Gy} = 1 \text{ J.kg}^{-1} = 1 \text{ m}^2.\text{s}^{-2} \quad (\text{I.2})$$

Le Gray représente 1 Joule d'énergie absorbée par un volume homogène ayant une masse de 1 kg.

I.1.2 Les grandeurs de radioprotection

Les grandeurs dosimétriques ont été définies dans le but de fournir une mesure physique qui puisse être corrélée aux effets des rayonnements. Le système international de radioprotection repose sur des grandeurs physiques mesurables, la fluence par exemple, auxquelles des résultats d'expériences sur les effets biologiques vont être associés. En effet, à partir de données radiobiologiques telles que la fréquence de cancers radio-induits par exemple, des facteurs de conversion / pondération sont déduits de manière à être utilisés pour définir les grandeurs de protection (dose efficace et dose équivalente). Ces grandeurs de protection seront quant à elles estimées en routine grâce aux grandeurs opérationnelles.

Ce système a été mis en place par la publication 60 de la CIPR [CIPR60] (International Commission on Radiological Protection) afin d'obtenir un système logique, cohérent et d'usage pratique conçu pour protéger tous les individus dans toutes les circonstances. Au fur et à mesure des années, ce système s'adapte aux évolutions des connaissances des effets des rayonnements ionisants sur l'homme et, par conséquent, des nouvelles recommandations sont proposées.

Sur la figure I-1, nous avons reporté un schéma du système de grandeurs de radioprotection qui est composé des grandeurs physiques, des grandeurs de protection et des grandeurs opérationnelles. Ces grandeurs forment ainsi un système de grandeurs corrélées.

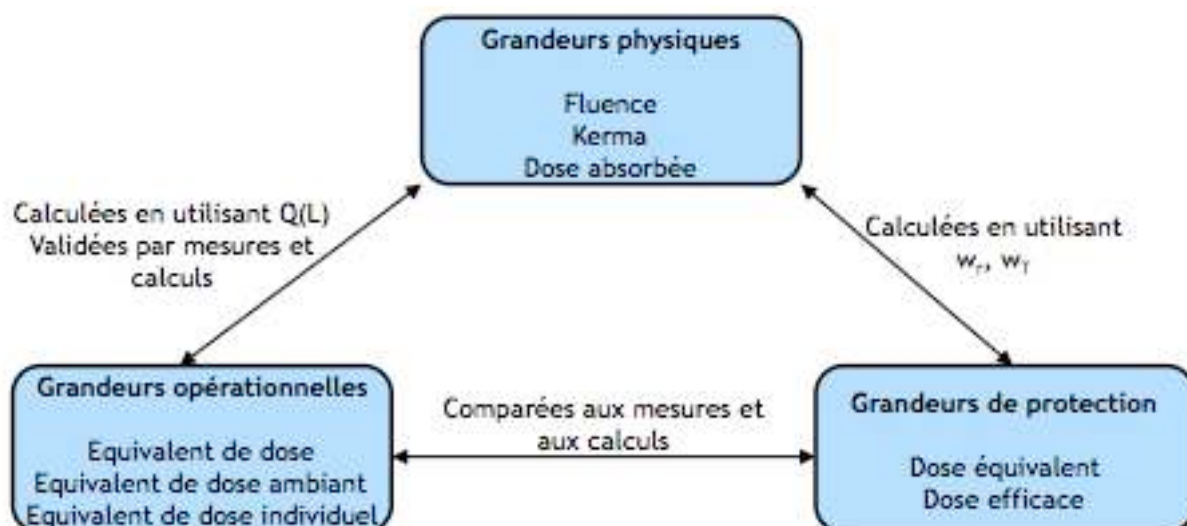


Figure I-1: Relation entre les différentes grandeurs de radioprotection de la CIPR103 [CIPR103].

I.1.2.1 Les grandeurs physiques

Les grandeurs physiques sont des grandeurs accessibles quantitativement soit par le calcul soit par la mesure. Les grandeurs que nous allons présenter dans cette section servent à caractériser l'effet « physique » des rayonnements sur la matière en terme d'énergie transférée ou de dépôts d'énergie. En effet, lorsque les rayonnements ionisants pénètrent dans la matière, ils rentrent en collision avec les atomes de celle-ci et au cours de ces interactions ils déposent tout ou partie de leur énergie. Les grandeurs fondamentales qui permettent de caractériser la perte d'énergie sont la fluence, la dose absorbée et le kerma.

I.1.2.1.1 La fluence Φ

En un point donné, la fluence Φ est le quotient entre le nombre de particules dN pénétrant dans une sphère centrée en ce point et la surface da d'un grand cercle de cette sphère :

$$\Phi = \frac{dN}{da} \quad (I.3)$$

La fluence est un nombre de particules par cm^2 .

I.1.2.1.2 La dose absorbée

La grandeur physique de base de la dosimétrie est la dose absorbée. La dose absorbée D exprime la partie de l'énergie transportée par les rayonnements qui est déposée dans la matière dans laquelle

ils interagissent et induisent des effets. Elle correspond à l'énergie moyenne cédée par le rayonnement par unité de masse d'un volume infinitésimal V :

$$D = \lim_{m \rightarrow 0} \frac{\bar{\varepsilon}}{m} = \lim_{V \rightarrow 0} \frac{1}{\rho} \frac{\bar{\varepsilon}}{V} \quad (I.4)$$

L'unité de la dose absorbée est le joule par kilogramme (J/kg) ou le gray (Gy).

L'énergie déposée $\bar{\varepsilon}$ est une grandeur aléatoire qui est soumise aux fluctuations statistiques des interactions des rayonnements incidents et des particules chargées mises en mouvement.

La dose absorbée est une grandeur fondamentale qui permet de faire une mesure physique macroscopique pouvant être corrélée aux effets des rayonnements de tout système biologique. La dose absorbée est définie comme une grandeur moyenne qui s'obtient soit à partir d'un grand nombre de mesures soit à partir d'une mesure dans un volume fini de taille suffisante pour pouvoir négliger les fluctuations statistiques.

I.1.2.1.3 La dose transférée (kerma)

La dose transférée, le kerma (Kinetic Energy Released in MAtter) est également une grandeur exprimée en gray et a été introduite pour le cas des rayonnements indirectement ionisants (neutrons et photons). Le kerma représente l'énergie transférée par les rayonnements indirectement ionisants sous forme d'énergie cinétique aux particules directement ionisantes lors de leur passage.

$$K = \frac{dE_{tr}}{dm} \quad \text{en gray (Gy)} \quad (I.5)$$

où E_{tr} représente la somme de toutes les énergies cinétiques initiales de toutes les particules chargées mises en mouvement par le rayonnement primaire dans le volume étudié de masse dm .

Comme la dose absorbée, le kerma est une grandeur macroscopique qui n'est définie que pour une région suffisamment grande pour contenir un nombre d'interactions statistiquement représentatif.

La principale différence entre le kerma et la dose absorbée est que la dose absorbée décrit l'absorption d'énergie dans la matière tandis que le kerma décrit l'énergie transférée à des particules directement ionisantes comme il est illustré sur la figure I-2. Néanmoins, la dose transférée et la dose absorbée ont la même unité et sont équivalentes lorsque l'équilibre électronique est atteint, c'est-à-dire lorsqu'il y a compensation entre l'énergie emportée par les électrons mis en mouvement dans dm et sortant du volume cible, et l'énergie apportée par des électrons mis en mouvement à l'extérieur de dm pour le même rayonnement.

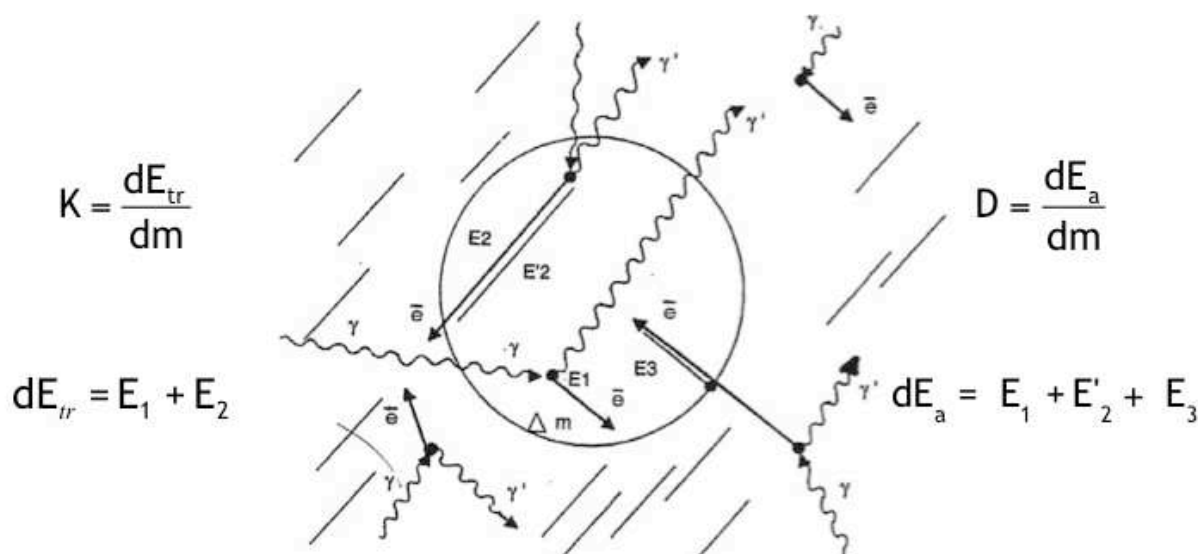


Figure I-2 : Différence entre kerma et dose absorbée. dE_{tr} est l'énergie transférée par les photons au sein de la sphère et dE_a est l'énergie absorbée à l'intérieur de la sphère à partir d'électrons mis en mouvement soit à l'intérieur soit à l'extérieur de la sphère [CHO97].

I.1.2.1.4 Le transfert d'énergie linéique (TEL)

Le transfert d'énergie linéique (TEL) représente la quantité d'énergie moyenne perdue par une particule chargée lors de collisions électroniques par unité de longueur et s'exprime en keV/ μ m.

Le concept du TEL a été largement utilisé dans le domaine de la radioprotection et de la radiobiologie. C'est une caractéristique importante qui permet de mesurer la densité d'ionisation moyenne le long de la trajectoire et qui dépend du type du rayonnement incident, de son énergie ainsi que du milieu traversé. Néanmoins il y a quelques limitations à ce concept dues au fait que le TEL est une grandeur moyenne qui ne permet pas de décrire les propriétés microscopiques des dépôts d'énergie. Bien que des particules aient le même TEL, la manière dont est déposée l'énergie dans un volume donné peut se révéler plus importante que la quantité du dépôt d'énergie en elle même.

Afin d'illustrer ceci, sur la figure I-3 nous avons reporté une trace de proton de 1 MeV et deux traces d'alpha, la première de 1 MeV et la seconde de 25 MeV, ainsi que les électrons secondaires générés lors du passage de ces particules. Ces traces ont été obtenues avec le code Monte Carlo Geant4-DNA qui sera exposé en détail dans le chapitre II et qui nous permet d'obtenir une description nanométrique des dépôts d'énergie composant la trace. Nous avons choisi ces traces de rayonnement et ces énergies afin de pouvoir comparer des traces de particules différentes ayant soit la même énergie soit le même TEL. L'influence du TEL pour un même type de rayonnement est également observée.

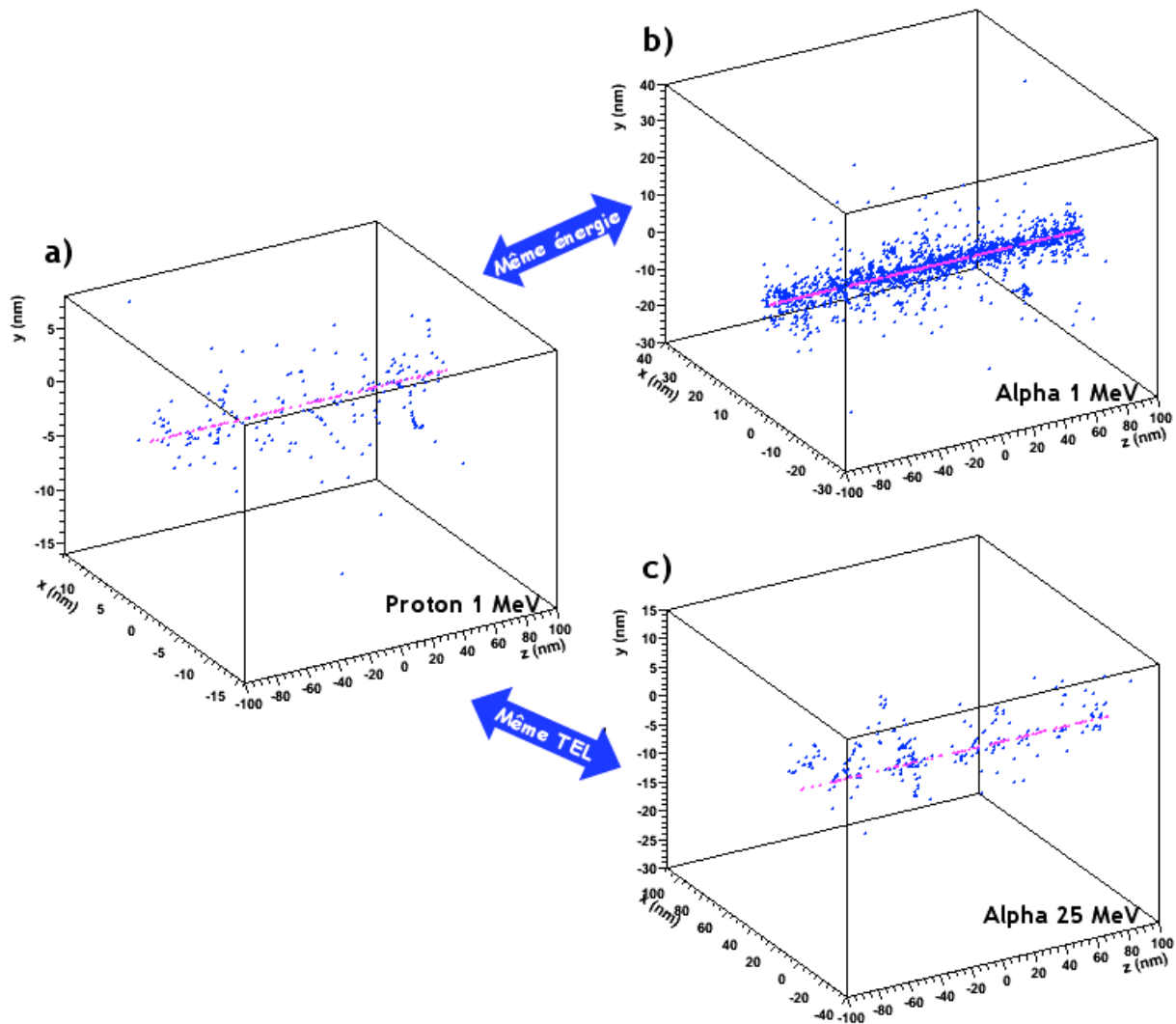


Figure I-3: Traces de proton et alphas obtenues avec Geant4-DNA dans l'eau liquide. En rose sont représentés les dépôts d'énergie émis par les particules primaires (proton ou alpha) et en bleu ceux dus aux électrons secondaires issus de ces particules primaires.

Suite aux simulations de ces différentes traces, nous pouvons observer que :

- Pour une particule donnée (figure I-3 b et I-3 c), l'augmentation du TEL correspond à une augmentation de la densité de la trace. Ceci indique que plus le TEL est grand, plus l'énergie est cédée sur une petite distance. On peut supposer que les dégâts causés par les rayonnements ionisants dans la même matière biologique seront donc d'autant plus importants que l'énergie cédée localement sera grande.
- Deux particules différentes ayant le même TEL conduisent à des traces complètement différentes dues à des différences au niveau de leur charge et de leur vitesse. Par exemple, sur les figures I-3 a et I-3 c, les deux traces des particules reportées ont des TEL semblables ($\sim 26 \text{ keV}/\mu\text{m}$) mais le spectre des électrons émis n'est pas le même. Les électrons secondaires éjectés par le proton sont produits en plus grande quantité et ils ont

une énergie cinétique plus faible conduisant ainsi à des dépôts d'énergie plus proches de la trace primaire. Ceci implique que l'effet biologique ne peut pas être uniquement fonction du TEL.

- Pour une même énergie mais pour des particules différentes (figures I-3 a et I-3 b), les alphas conduisent une densité de dépôts d'énergie beaucoup plus importante (TEL plus élevé) et pourront donc induire plus de dommages biologiques que des protons de même énergie.

Pour une même énergie cinétique, les particules chargées lourdes (proton, alpha, carbone...) qui sont des particules à haut TEL conduiront donc à un plus grand nombre de dommages dus à une plus grande densité de la trace par rapport aux photons qui sont des rayonnements caractérisés par un TEL beaucoup plus faible.

I.1.2.2 Les grandeurs de protection

Les grandeurs de protection ont été introduites afin d'établir des liens quantitatifs entre un type de rayonnement ionisant particulier et l'énergie communiquée par ce rayonnement au milieu biologique traversé. Elles sont employées dans un but de gestion du risque dans le cadre de la protection radiologique du public et des travailleurs.

Ainsi, deux grandeurs de protection ont été introduites par la CIPR60 [CIPR60] : la dose équivalente et la dose efficace (cf. figure I.1). Leurs définitions sont basées sur la dose absorbée moyennée sur un organe ou un tissu et sur des facteurs de pondération et s'exprime en sievert. Ces grandeurs sont utilisées pour définir les limites de dose pour lesquelles la survenue d'effets stochastiques sur la santé est maintenue en dessous des niveaux inacceptables et les réactions tissulaires (effets déterministes) sont évitées.

Les facteurs de pondération utilisés pour calculer ces grandeurs permettent de prendre en compte la nature du rayonnement ainsi que celle de l'organe ou tissu car, selon leur fonction, ceux-ci montrent des sensibilités variables aux rayonnements ionisants. Depuis les années 60, la méthode de pondération des rayonnements pour définir les grandeurs de protection est utilisée. Néanmoins, à cette époque c'est le facteur de qualité Q qui était utilisé et ce n'est qu'à partir de 1991 que la commission choisit un ensemble général de facteurs de pondération pour les rayonnements (w_r) et pour les tissus (w_T) considérés comme appropriés aux besoins de la protection radiologique. Le facteur de pondération w_R repose sur l'évaluation de l'efficacité biologique relative (EBR) des différents rayonnements par rapport aux effets stochastiques qu'ils produisent et le facteur de pondération tissulaire w_T reflète la sensibilité du tissu ou de l'organe à l'induction d'un effet biologique. Ainsi, ces grandeurs incluent l'effet biologique par des facteurs de pondération définis à

partir de données expérimentales ou épidémiologiques moyennées mais suffisantes pour leur utilisation au niveau des faibles doses faisant l'objet de la radioprotection.

Grâce aux avancées réalisées dans le domaine de la radiobiologie et des études épidémiologiques, ces valeurs sont affinées au fur et à mesure des années. Ainsi, des nouvelles valeurs pour ces facteurs ont été publiées récemment dans la publication 103 de la CIPR [CIPR103].

I.1.2.2.1 L'Efficacité Biologique Relative (EBR)

A dose absorbée égale, les dégâts biologiques dépendent de la nature du rayonnement, autrement dit de sa qualité. L'Efficacité Biologique Relative (EBR) permet de mesurer cette dépendance.

L'EBR est définie comme le ratio entre la dose D_{ref} nécessaire pour produire l'effet biologique déterminé avec un rayonnement de référence (le plus souvent les rayons X de 200 keV) et la dose D_{test} nécessaire pour produire le même effet biologique avec le rayonnement que l'on cherche à caractériser. Par définition, l'EBR est une notion expérimentale :

$$EBR = \frac{D_{\text{ref}}}{D_{\text{test}}} \quad (I.6)$$

Ainsi, en fonction de l'effet biologique considéré, la valeur de l'EBR varie et sa relation avec le TEL du rayonnement est différente.

Cette notion d'EBR est très utile pour les études biologiques mais peu utilisable en radioprotection étant donné qu'il varie en fonction de l'effet biologique considéré (formation de cancer, apoptose, etc.) mais également de la dose absorbée. Pour cette raison et de manière à pouvoir être utilisée dans le cadre de la radioprotection, des valeurs maximales pour les EBR ont été définies de manière à prendre en compte les cas d'exposition les plus critiques.

I.1.2.2.2 Le facteur de qualité Q(L)

Le facteur de qualité est un facteur de pondération qui permet de fournir une estimation du risque des différents types de rayonnements ionisants en fonction de leur TEL et s'exprime de la façon suivante :

$$Q(L) = 1 \quad (L < 10 \text{ keV}/\mu\text{m}) \quad (I.7)$$

$$Q(L) = 0,32L - 2,2 \quad (10 \leq L \leq 100 \text{ keV}/\mu\text{m}) \quad (I.8)$$

$$Q(L) = \frac{300}{\sqrt{L}} \quad (L > 100 \text{ keV}/\mu\text{m}) \quad (I.9)$$

Le facteur de qualité a été défini dans la publication 60 de la CIPR [CIPR60] à partir de résultats d'expériences de radiobiologie sur des systèmes cellulaires et des résultats obtenus suite à des expériences sur des animaux. Ainsi, les différentes valeurs de ce facteur ont été déterminées à partir des valeurs expérimentales des EBR que nous avons définis dans la section précédente.

I.1.2.2.3 La dose équivalente

La dose équivalente est utilisée en radioprotection pour évaluer les risques stochastiques liés à une irradiation et pouvant engendrer des risques de cancers radio-induits, des risques d'effets héréditaires ou de raccourcissement de l'espérance de vie. Elle est le résultat de la pondération de la dose absorbée par un tissu par le facteur w_R donné par la CIPR [CIPR103] visant à prendre en compte les différences d'efficacité biologique relatives à chaque type de rayonnement :

$$H_{T,R} = \sum w_R D_{T,R} \quad \text{en sievert (Sv)} \quad (I.10)$$

Les valeurs w_R sont déterminées à partir d'un large éventail de données expérimentales sur les EBR. Dans le tableau I-1 nous avons reporté les valeurs de ces facteurs de pondération [CIPR103] :

Tableau I-1 : Facteurs de pondération liés à la nocivité des rayonnements.

Type de rayonnement	w_R CIPR103	
Photons	1	
Electrons	1	
Alphas, ions lourds	20	
Protons	2	
Neutrons	$2,5 + 18,2e^{-(\ln(E_n)^2)/6}$	$E_n < 1 \text{ MeV}$
	$5,0 + 17,0e^{-(\ln(2E_n)^2)/6}$	$1 \text{ MeV} \leq E_n \leq 50 \text{ MeV}$
	$2,5 + 3,25e^{-(\ln(0,04E_n)^2)/6}$	$E_n > 50 \text{ MeV}$

I.1.2.2.4 La dose efficace

De manière à prendre en compte la nature du tissu ou de l'organe irradié, la CIPR60 [CIPR60] a défini la dose efficace qui correspond à la somme pondérée des doses équivalentes reçues par les tissus ou organes du corps humain.

$$E_{T,R} = \sum_T w_T H_T = \sum_T \sum_R w_{Tt} w_{Rr} D_{R,T} \quad \text{en sievert (Sv)} \quad (I.11)$$

Les valeurs des w_T ont été définies de manière à refléter la sensibilité d'un tissu ou d'un organe et s'appuient sur des études épidémiologiques concernées par l'induction de cancers chez des populations exposées et sur l'évaluation des risques d'effets héréditaires. Ces facteurs sont des moyennes pour les êtres humains des deux sexes et de tous âges et ils ont été reportés dans le tableau I-2.

Comme nous venons de le mentionner, la dose efficace est définie pour une personne de référence, en tenant compte des conditions d'exposition, mais sans tenir compte des caractéristiques morphologiques de la personne exposée ou de l'âge, du sexe ou encore de sa santé. Par conséquent, elle ne peut pas être utilisée pour définir le risque individuel. Ainsi la dose efficace est utilisée comme outil pour la gestion de la radioprotection.

Tableau I-2 : Facteurs de pondération tissulaire w_T .

Organe/tissu	w_T CIPR103	Organe/tissu	w_T CIPR103
Gonades	0,08	Œsophage	0,04
Moelle	0,12	Thyroïde	0,04
Colon	0,12	Peau	0,01
Poumon	0,12	Surface des os	0,01
Estomac	0,12	Tissus restants	0,12
Vessie	0,04	Cerveau	0,01
Sein	0,12	Glandes salivaires	0,01
Foie	0,04	Total	1

I.1.2.3 Les grandeurs opérationnelles

Dans la pratique, les grandeurs de protection ne sont pas des grandeurs directement mesurables, mais calculables. Pour pallier à ce problème l'ICRU a défini des équivalents de dose dans une sphère standard pour les mesures de radioprotection. La sphère ICRU est une sphère de 30 cm de diamètre composée d'un matériau équivalent tissu, de masse volumique 1g/cm^3 (76,2 % d'oxygène, 11,1 % de carbone, 10,1 % d'hydrogène et 2,6 % d'azote).

Ces grandeurs sont définies pour deux catégories de rayonnement (faiblement ou fortement pénétrant) et pour la surveillance des locaux, de l'environnement et de l'exposition individuelle.

I.1.2.3.1 L'équivalent de dose

L'équivalent de dose est défini en un point du tissu par le produit entre la dose absorbée D en ce point et le facteur de qualité $Q(L)$ des particules pour un TEL donné :

$$H = Q(L)D \quad (I.12)$$

I.1.2.3.2 L'équivalent de dose ambiant $H^*(d)$

$H^*(d)$, en un point dans un champ de rayonnement, représente l'équivalent de dose qui serait produit par le champ expansé et unidirectionnel correspondant dans la sphère ICRU à une profondeur d sur le rayon opposé à la direction du champ aligné. Les valeurs recommandées pour d sont 10 mm pour les rayonnements fortement pénétrants et 0,07 mm pour les rayonnements faiblement pénétrants.

I.1.2.3.3 L'équivalent de dose individuel $H_p(d)$

L'équivalent de dose individuel $H_p(d)$ est défini comme l'équivalent de dose reçu dans un tissu mou à une profondeur d , en un point spécifié du corps. Cette grandeur est mesurée dans le fantôme tronc de référence composé de PMMA (PolyMéthacrylate de Méthyl Acétique) de dimension 30 x 30 x 15 cm [ICRU51]. Les trois valeurs prises par d sont 3 mm pour l'évaluation de la dose au cristallin, 0,07 mm pour l'évaluation de la dose reçue à la peau et 10 mm pour l'évaluation de la dose efficace au corps entier.

I.1.3 La prise en compte du caractère stochastique

Dans la section précédente, nous avons présenté les grandeurs physiques, de protection et opérationnelles de base utilisées dans le cadre de la dosimétrie et de la radioprotection.

Comme nous l'avons vu, la dose absorbée est définie comme le quotient entre l'énergie moyenne communiquée par un rayonnement $\bar{\epsilon}$ et la masse de matière m du volume V . Néanmoins, l'énergie moyenne déposée dans un volume de masse m résulte d'un ensemble de transferts d'énergie individuels ϵ_i correspondant aux différentes interactions inélastiques entre un rayonnement et la matière de la cible. Ces dépôts individuels sont différents en quantité et en nombre pour un même rayonnement dans le même volume cible.

Si l'on représente l'évolution du ratio $\bar{\varepsilon}/m$ en fonction du logarithme de m , nous pouvons observer des fluctuations importantes de ce ratio en fonction de la masse m , c'est-à-dire pour les très petits volumes, comme nous le montre la figure I-4.

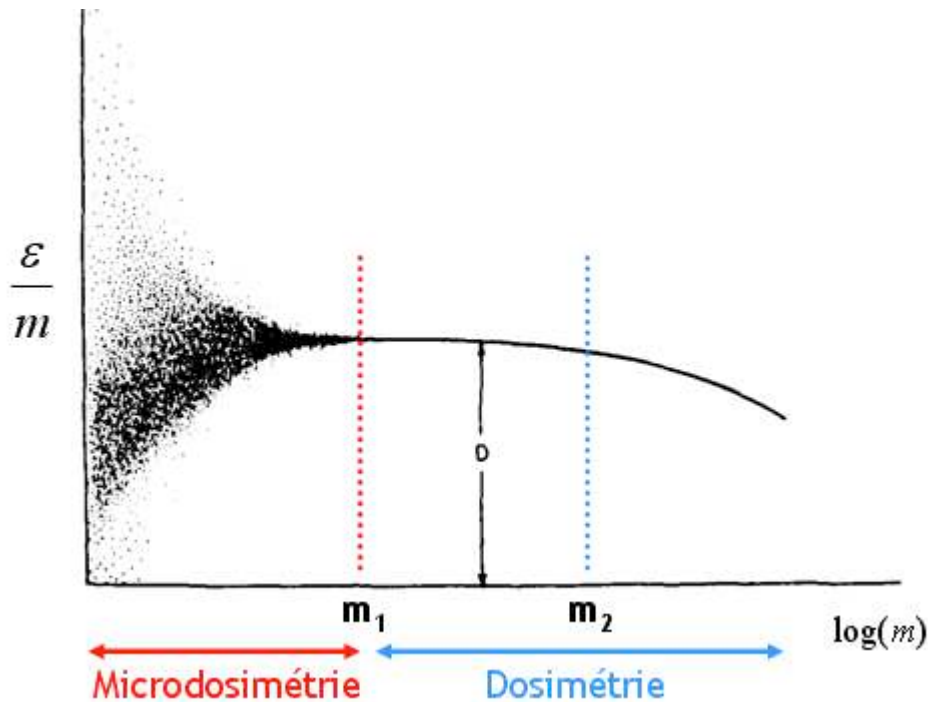


Figure I-4 : Variation du ratio $\bar{\varepsilon}/m$ en fonction de la masse m du site étudié [ROS68].

En examinant cette figure, nous pouvons constater que pour les éléments de masse m compris entre m_1 et m_2 , les valeurs des ratios sont sensiblement les mêmes d'un élément à l'autre. Néanmoins, nous pouvons observer une diminution de ce ratio pour les masses supérieures à m_2 qui est liée au fait que le rayonnement traversant l'élément de volume peut être atténué ou absorbé, le rayonnement est donc sensible à l'augmentation de la masse du volume traversé.

Si l'on s'intéresse à des éléments de masse m inférieur à m_1 , on peut alors observer une dispersion importante entre les différentes valeurs des ratios. Ceci résulte du fait que les particules chargées déposent leur énergie en pas discrets de manière stochastique. Ainsi le nombre d'interactions survenant dans le volume de masse m peut varier considérablement d'un volume à l'autre pour les faibles masses, c'est-à-dire pour les très petits volumes.

C'est donc dans le domaine des masses comprises entre m_1 et m_2 que la notion de dose absorbée a toute sa valeur. En effet dans cette zone, bien que l'énergie soit déposée en pas discret, le nombre d'interactions se produisant dans m est suffisamment important pour que statistiquement $\bar{\varepsilon}$ soit sensiblement le même d'un élément à l'autre. Ceci montre bien la signification macroscopique de la notion de dose absorbée. Les grandeurs dosimétriques sont donc, dans beaucoup de cas, inadaptées pour décrire les effets des rayonnements dans la matière car ces grandeurs ne reposent

que sur des grandeurs macroscopiques moyennes et, par conséquent, perdent toute l'information sur la nature et la topologie des dépôts d'énergie au sein du volume sensible étudié.

Si l'on cherche à étudier l'effet biologique à partir des dommages créés sur des molécules comme l'ADN (dimension nanométrique) pour différents types de rayonnements, la dose absorbée apparaît donc comme une grandeur insuffisante pour décrire le dépôt d'énergie du rayonnement. Il devient donc évident que deux rayonnements de nature différente peuvent, à dose absorbée égale, conduire à des effets biologiques différents (variations au niveau du ratio $\bar{\varepsilon}/m$ à l'intérieur des volumes élémentaires comme les cellules ou structures subcellulaires).

La description d'une irradiation nécessitera donc, en plus de la dose absorbée, une information sur la nature et la distribution de l'énergie déposée dans le volume étudié. Ainsi, dès les années 60, d'autres grandeurs ont été introduites de manière à étudier le caractère stochastique des dépôts d'énergie des rayonnements et leurs conséquences dans les mécanismes de la réponse biologique : ce sont les grandeurs microdosimétriques.

I.2 La microdosimétrie

I.2.1 Développement historique de la microdosimétrie

Initiée dans les années 60 par H. H. Rossi [ROS59, ROS60], la microdosimétrie a pour objectif de décrire et de quantifier les phénomènes physiques stochastiques de dépôts d'énergie dans des volumes de l'ordre du micromètre afin de comprendre l'impact d'un rayonnement sur le système biologique exposé et si possible d'établir une relation entre la topologie des dépôts d'énergie initiaux et les effets biologiques observés [ROS86]. Pour ce faire, la microdosimétrie étudie les fluctuations observées au niveau des dépôts d'énergie dans la matière dues à la nature, aux nombres, à l'énergie ou encore à la direction des particules qui vont influencer la réponse biologique [ROS91]. Ainsi, dès son commencement cette discipline apparaît donc comme une discipline mixte traitant des questions liées au domaine de la physique et au domaine de la biologie.

A titre d'exemple, la figure I-5 (extraite de [ROS79]) présente la différence dans la topologie des dépôts d'énergie correspondant à une dose de 10 mGy pour un ensemble cellulaire selon que l'énergie ait été déposée par des neutrons ou par les photons gamma du cobalt 60. Ainsi, dans le cas des neutrons, seules quelques cellules recevront de l'énergie alors que dans le cas des photons les dépôts d'énergie sont répartis de manière beaucoup plus homogène.

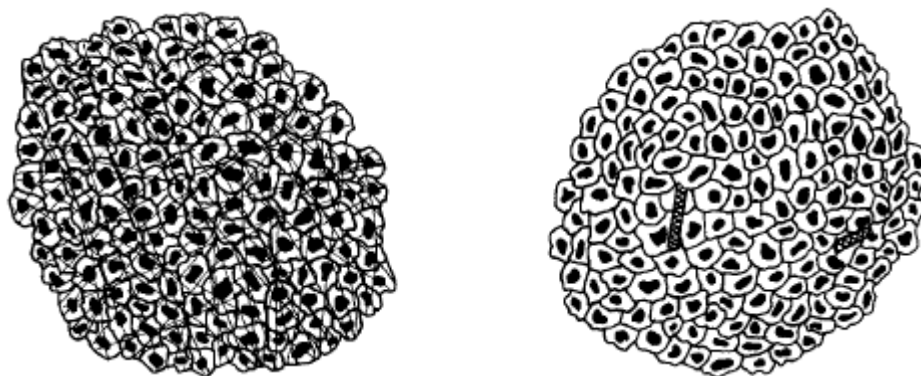


Figure I-5 : Dose de 10 mGy obtenue à partir de Cobalt 60 (à gauche) et de neutrons de 1 MeV (à droite) [ROS79].

De nos jours, il est généralement admis que l'efficacité biologique d'un rayonnement sera d'autant plus grande que la densité moyenne d'ionisation sera grande. Les effets biologiques seront donc particulièrement dépendants de la topologie des dépôts d'énergie car l'effet sur une cellule va dépendre de la quantité d'énergie que celle-ci reçoit et non de la moyenne reçue par l'ensemble des cellules.

Généralement, le Transfert d'Énergie Linéique (TEL) est utilisé en première approche afin de qualifier la réponse biologique. Comme nous l'avons vu précédemment, cette approche s'est avérée utile dans le cadre de la radioprotection pour évaluer la pondération à appliquer à la dose absorbée pour prendre en compte la variation d'efficacité biologique des rayonnements (facteur de qualité $Q(L)$ défini dans la section I.1.2.2.2). Néanmoins, il ne renseigne pas sur la distribution des dépôts d'énergie induits par les rayonnements et dépend de la taille du volume étudié s'avérant insuffisant à l'échelle nanométrique (échelle de l'ADN).

Par la suite, H.H. Rossi [ROS59, ROS60, ROS67] a proposé une méthode de caractérisation des rayonnements à partir des spectres microdosimétriques, obtenus expérimentalement ou par calcul numérique, renseignant sur la probabilité que la particule incidente dépose une certaine énergie dans un volume micrométrique. Expérimentalement, les spectres microdosimétriques sont mesurés à l'aide de compteurs proportionnels à parois et gaz équivalent tissu (CPET), également appelé compteur de Rossi, applicables à une large gamme de rayonnements. Ces compteurs microdosimétriques sont constitués d'une cavité sphérique remplie de gaz à basse pression et simulent des volumes de l'ordre du micromètre [ROS91]. Grâce à ces compteurs, il est possible de collecter l'énergie déposée par les rayonnements, événement par événement, permettant ainsi d'avoir accès aux fonctions de fréquences (cf. section suivante). Théoriquement, les spectres microdosimétriques sont obtenus par simulation Monte Carlo où les traces de particule sont simulées de manière discrète permettant ainsi de suivre pas à pas le parcours des particules primaires et des particules secondaires générées dans la matière et d'obtenir l'énergie déposée à chaque interaction.

Ainsi, le cadre mathématique de la microdosimétrie a été établi dès les années 60 en décrivant un ensemble de variables physiques et leurs méthodes de mesure associées [ROS59, ROS60]. Ces grandeurs et méthodes ont ensuite été consolidées dans les années 70 [KEL75a, KEL75b, KEL75c], 80 et 90 [KEL85, KEL90].

I.2.2 Les notions et les grandeurs microdosimétriques

La majorité des grandeurs utilisées en microdosimétrie ont été normalisées par l'ICRU dans le rapport 36 de 1983 [ICRU36]. Dans la suite de cette section nous allons détailler les concepts sur lesquels repose la microdosimétrie :

- Le choix du volume cible (volume micrométrique) ;
- La notion d'événement dans le volume cible ;
- L'énergie impartie, l'énergie spécifique et la dose permettent de caractériser le phénomène de dépôt d'énergie ;
- La connaissance des densités de probabilité de l'énergie spécifique ou de l'énergie linéale ($f_1(z)$ ou $f(y)$) pour un événement simple dans le volume cible étudié ;
- La distribution en fréquence de l'énergie spécifique et le nombre d'événements moyens qui sont dérivés des distributions statistiques de dépôt d'énergie.

I.2.2.1 Notion d'événement dans le volume cible

Si l'on considère un volume V , l'interception de la trace d'une particule dans ce volume correspond à un événement. Les dépôts d'énergie associés à cet événement seront l'ensemble des dépôts d'énergie ε_i en chaque point de transfert i résultant du passage de particules en corrélation avec une seule particule primaire. Bien que le concept d'événement ne soit pas une grandeur microdosimétrique fondamentale, il est très important car il est lié à la nature stochastique des dépôts d'énergie et à leur forte fluctuation au niveau de leur densité dans un volume donné [ROS86].

De plus, c'est grâce à ce concept que l'on pourra évaluer l'efficacité des différents types de particules. En effet, quelle que soit la nature de la particule incidente, une ionisation, par exemple, ne sera pas très différente d'une particule à l'autre. Par contre, ce sont les différences

rencontrées dans le nombre des points de transfert appartenant à un événement et leurs distributions dans le volume cible qui nous permettront d'évaluer l'efficacité d'un rayonnement.

I.2.2.2 L'énergie impartie

L'énergie communiquée ε au milieu dans un volume V , correspond à la somme de l'ensemble des dépôts d'énergie (ε_i) dans ce volume :

$$\varepsilon = \sum_i \varepsilon_i \quad \text{en eV} \quad (I.13)$$

L'énergie communiquée dans un volume est donc une quantité stochastique qui peut être due à un ou plusieurs événements indépendants. Le dépôt d'énergie ε_i est, quant à lui, dû à une seule interaction au point de transfert i . Il est défini par :

$$\varepsilon_i = \varepsilon_{in} - \varepsilon_{out} + Q \quad \text{en eV} \quad (I.14)$$

où ε_{in} représente l'énergie de la particule ionisante incidente dans le milieu et ε_{out} représente la somme des énergies des particules ionisantes émises lors de l'interaction. Enfin Q représente les variations liées aux énergies de masse au repos des noyaux et des particules élémentaires impliqués (transformation nucléaire).

I.2.2.3 L'énergie spécifique

L'énergie spécifique z est définie comme le ratio entre la quantité d'énergie déposée dans un volume et la masse de celui-ci :

$$z = \frac{\varepsilon}{m} \quad \text{en Gy} \quad [\text{ROS61}] \quad (I.15)$$

L'énergie spécifique est une variable stochastique qui possède une densité de probabilité F et dont la moyenne correspond à la dose absorbée : $D = E(z) = \bar{z}$.

I.2.2.4 L'énergie linéale

On a vu précédemment que le TEL procure une mesure non stochastique de la quantité d'énergie moyenne déposée par unité de longueur. L'énergie linéale, quant à elle, est une variable

stochastique qui correspond au ratio entre l'énergie communiquée par un seul événement traversant un élément de volume V divisée par la longueur moyenne des cordes \bar{l} dans le volume V :

$$y = \frac{\varepsilon}{\bar{l}} \quad \text{en keV}/\mu\text{m} \quad (\text{I.16})$$

La corde moyenne \bar{l} dans le volume V est définie comme la longueur moyenne des cordes orientées de manière aléatoire dans ce volume. Pour un volume convexe, la corde moyenne est définie par :

$$\bar{l} = \frac{4V}{S} \quad (\text{I.17})$$

où S est l'aire de la surface du volume V .

L'énergie linéale est une variable aléatoire qui n'est pas analogue au TEL (grandeur non stochastique) contrairement à l'énergie spécifique qui est l'analogue stochastique de la dose absorbée D . En effet, y est une variable aléatoire étroitement liée à sa méthode de mesure expérimentale en microdosimétrie. Dans cette mesure, il n'est pas possible de connaître le « vrai » parcours de l'événement. Ainsi, un « parcours » moyen dans le volume micrométrique est pris pour tous les événements. Dans le cas de la grandeur TEL, le volume du dépôt n'est pas pris en considération et la valeur est donnée comme étant la perte d'énergie moyenne sur $1 \mu\text{m}$ en linéaire.

L'énergie spécifique et l'énergie linéale sont étroitement liées car elles dépendent toutes deux de ε et sont reliées par :

$$z = \frac{\bar{l}}{V} y \quad \text{en keV}/\mu\text{m} \quad (\text{I.18})$$

I.2.3 Les distributions de probabilité associées aux grandeurs microdosimétriques fondamentales

L'énergie spécifique et l'énergie linéale étant des grandeurs stochastiques, il est très utile de considérer les probabilités de distribution de celles-ci.

Concernant l'énergie spécifique, la valeur de la fonction de distribution $F(z ; D)$ représente la probabilité que l'énergie spécifique soit égale ou inférieure à z pour une dose absorbée D . Sa dérivée $f(z ; D)$ est la densité de probabilité associée.

$$F(z;D) = P(0 \leq z' \leq z;D) \quad (I.19)$$

$$f(z;D) = \frac{dF(z;D)}{dz} \quad (I.20)$$

La densité de probabilité $f(z;D)$ inclut une composante discrète (fonction de Dirac) à $z = 0$ pour la probabilité de n'avoir aucun dépôt d'énergie. La valeur moyenne de cette distribution correspond à la dose totale absorbée :

$$D = \bar{z} = \int_0^{\infty} z f(z;D) dz \quad (I.21)$$

L'énergie spécifique peut être due à un ou plusieurs événements. Néanmoins, dans le cas des faibles doses, elle n'est souvent due qu'à un seul événement et on a alors : $f(z;D) = f_1(z)$, avec $f_1(z)$ la densité de probabilité de z pour un événement simple dans le volume cible étudié ($\int_0^{\infty} f_1(z) dz = 1$).

A partir de cette grandeur, il est possible de déterminer la moyenne de l'énergie spécifique sur la distribution d'événements simples (fréquence moyenne de z par événement) :

$$\bar{z}_F = \frac{\int_0^{\infty} z f_1(z) dz}{\int_0^{\infty} f_1(z) dz} = \int_0^{\infty} z f_1(z) dz \quad (I.22)$$

Le quotient $\frac{z \cdot f_1(z) dz}{\bar{z}_F}$ représente la contribution à la dose D des événements déposant une énergie spécifique comprise en z et $z+dz$. A partir de celui-ci nous obtenons la distribution unitaire en dose de l'énergie spécifique :

$$d_1(z) = \frac{z \cdot f_1(z)}{\bar{z}_F} \quad (I.23)$$

A partir de cette distribution unitaire en dose, il est possible de déterminer une seconde moyenne de l'énergie spécifique qui est l'énergie spécifique moyenne en dose, z_D :

$$\bar{z}_D = \int_0^{\infty} z d_1(z) dz = \int_0^{\infty} z \cdot \frac{z \cdot f_1(z)}{\bar{z}_F} dz = \frac{\overline{z^2}}{\bar{z}_F} \quad (I.24)$$

Pour une dose absorbée donnée D , les événements apparaissent aléatoirement. Le nombre d'événements moyens, grandeur non stochastique, est décrit comme le quotient entre l'énergie spécifique moyenne et la fréquence moyenne de l'énergie spécifique par événement :

$$\bar{v} = \frac{\bar{z}}{z_F} = \frac{D}{z_F} \quad (I.25)$$

Le nombre d'événements indépendants \bar{v} est quant à lui sujet à des fluctuations statistiques du fait que les événements sont indépendants et rares, ils sont distribués suivant une loi de Poisson.

$$P(v) = \frac{\bar{v}^v}{v!} \cdot e^{-\bar{v}} \quad (I.26)$$

Au même titre que l'énergie spécifique, il est possible de déterminer la fonction de distribution de l'énergie linéale $F(y)$ qui représente la probabilité que l'énergie linéale soit inférieure ou égale à y ainsi que sa densité de probabilité. La principale différence entre ces distributions est que les valeurs de y ne résultent que d'un seul événement, par conséquent cette distribution est une distribution unitaire et non corrélée à la dose absorbée.

$$F(y) = P(0 \leq y' \leq y) \quad (I.27)$$

$$f(y) = \frac{dF(y)}{dy} \quad (I.28)$$

De manière analogue à l'énergie spécifique, la valeur moyenne, la distribution unitaire en dose et l'énergie linéale moyenne en dose peuvent être définies de la façon suivante :

$$\text{Energie linéale moyenne : } \bar{y} = \int_0^{\infty} y f(y) dy \quad (I.29)$$

$$\text{Distribution unitaire en dose de } y : d_1(y) = \frac{y \cdot f_1(y)}{y_F} \quad (I.30)$$

$$\text{Energie linéale moyenne en dose de } y : \bar{y}_D = \int_0^{\infty} y d_1(y) dy \quad (I.31)$$

I.2.4 Représentation des spectres microdosimétriques

Une méthode permettant de caractériser un rayonnement est l'utilisation de spectres microdosimétriques renseignant sur la probabilité que les particules incidentes ont de déposer une certaine énergie dans un volume micrométrique [ROS59, ROS60]. Ces spectres sont très utilisés car

ils permettent de mettre en évidence la grande variabilité au niveau de la quantité d'énergie déposée pour un événement (par exemple pour des rayonnements complexes composés par différentes qualités de rayonnements avec des TEL différents).

Ces spectres peuvent être obtenus soit expérimentalement, grâce à des compteurs proportionnels par exemple, soit par modélisation Monte Carlo. En général ces spectres sont représentés par la variation de $yf(y)$ en fonction de y ou de ydy en fonction de y . Pour illustrer ceci, sur les figures I-6 et I-7 nous avons reporté les spectres microdosimétriques obtenus en mesurant les caractéristiques microdosimétriques d'un faisceau de neutrons de haute énergie (rayon mixte neutron-gamma) à l'aide d'un compteur de Rossi [PIH89].

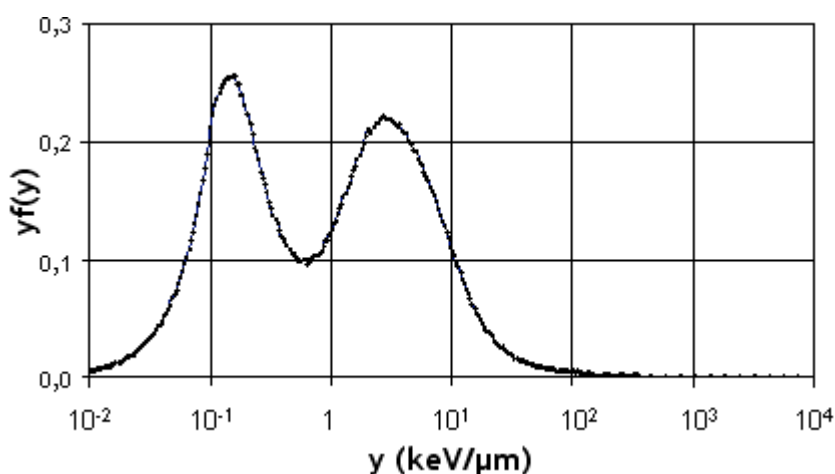


Figure I-6 : Spectre microdosimétrique représentant la distribution en fréquence de l'énergie linéale [PIH10].

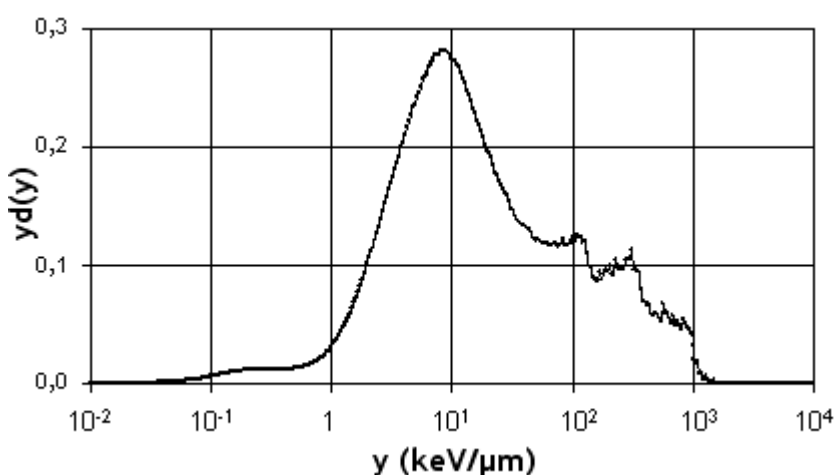


Figure I-7 : Spectre microdosimétrique représentant la distribution en dose de l'énergie linéale [PIH10].

La figure I-6 représente la distribution en fréquence de l'énergie linéale. L'aire sous cette courbe correspond au pourcentage d'événements dans l'intervalle d'énergie linéale considéré. Les deux pics caractérisent la probabilité que les événements soient dus aux gammas (premier pic, faible TEL) ou aux protons de recul (second pic, haut TEL). Nous pouvons observer que pour les énergies supérieures à 10 keV/ μm la probabilité est très faible mais ce sont eux qui contribuent le plus à la dose absorbée totale comme le montre le spectre microdosimétrique de la figure I-7.

La figure I-7 représente la distribution en dose de l'énergie linéale. L'aire sous la courbe représente la fraction de la dose absorbée totale dans l'intervalle de y considéré. Contrairement au spectre précédent, les événements dus aux gammas sont ceux qui contribuent le moins à la dose absorbée totale alors que ce sont eux les plus probables. Ce sont les événements rares, plus de 100 keV/ μm , qui contribuent le plus à la dose absorbée totale.

I.3 La nanodosimétrie

Dans la section précédente nous avons mis en évidence la nécessité d'utiliser des grandeurs microdosimétriques afin d'étudier les effets biologiques des rayonnements ionisants. Néanmoins, dans le cadre de l'étude des effets biologiques au niveau intracellulaire, comme les cassures de brin de l'ADN, les moyennes obtenues au niveau microscopique ne sont plus suffisantes.

En effet, si pour l'analyse au niveau de la cellule, l'échelle micrométrique est suffisante, l'accès au niveau intracellulaire nécessite de descendre encore en résolution spatiale. L'objectif est alors en effet de disposer de concepts et d'outils permettant d'étudier l'ensemble des dépôts d'énergie de la trace afin d'évaluer et de comprendre l'action d'un rayonnement.

L'intérêt pour l'étude des dommages créés à l'ADN était présent dès le début de la microdosimétrie comme le montre la figure I-8 [GOO06] où sont représentées les tailles de cibles étudiées depuis les débuts de la microdosimétrie. Néanmoins, l'accès expérimental à l'énergie déposée dans des volumes d'aussi faibles dimensions, de même que leurs simulations, était très compliqué avec les moyens disponibles à cette époque. Ainsi, il a fallu attendre une vingtaine d'années avant de pouvoir réaliser des simulations à cette échelle.

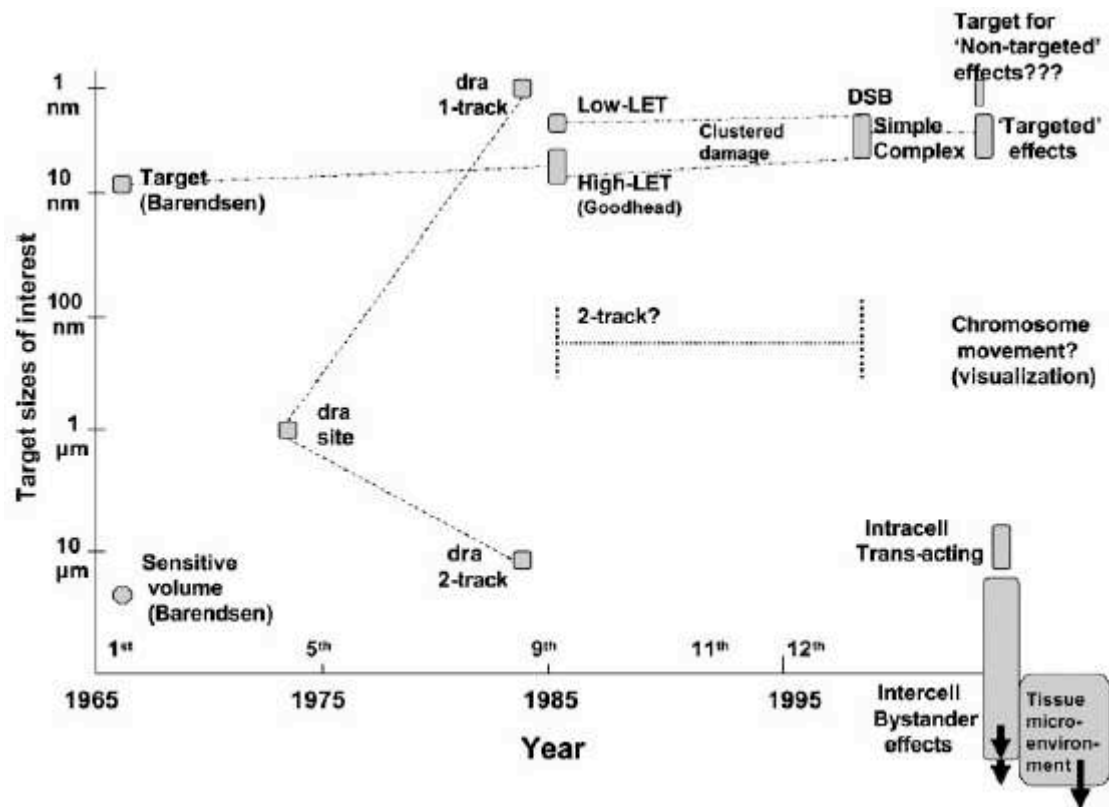


Figure I-8 : Evolution historique des tailles des cibles biologiques pour l'étude des effets biologiques [GOO06].

En diminuant le volume cible de l'étude à l'échelle nanométrique, l'énergie déposée devient pratiquement celle correspondant à un seul transfert ε_i . Ainsi, la nanodosimétrie correspond donc à l'étude de tous les dépôts d'énergie de la trace et de la distance entre eux, ce que l'on appelle la structure de la trace (figure I-9). Son objectif est de déterminer les distributions de tous les dommages primaires, induits par exemple par ionisation ou excitation (si l'on néglige les effets collectifs liés aux plasmons et aux phonons) afin de remonter aux effets biologiques au niveau cellulaire et intracellulaire.

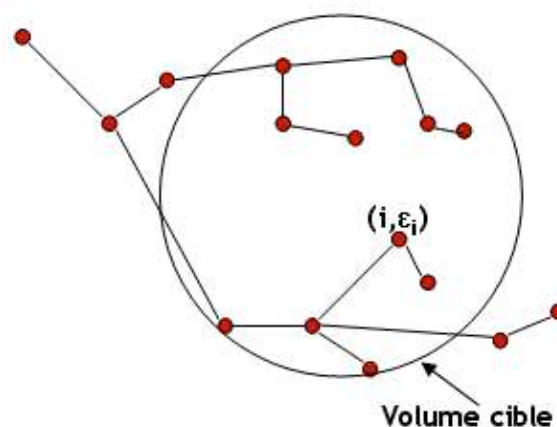


Figure I-9 : Evénements et points de transferts dans un volume cible.

De nos jours, la simulation Monte Carlo est la seule méthode permettant d'avoir accès aux détails des dépôts d'énergie créés dans de très petites structures biologiques telles que l'ADN. Ainsi ces codes de calculs sont un atout majeur pour l'étude des dommages radio-induits au niveau cellulaire et intracellulaire car ils permettent de simuler toutes les interactions que les particules primaires ainsi que les particules secondaires générées peuvent réaliser dans la matière. Les différents codes de calculs dédiés à l'étude de la structure de la trace seront présentés dans le chapitre II.

Sur la figure I-10 nous avons reporté les grandeurs mathématiques et les méthodes de calcul utilisées dans le cadre de la dosimétrie en distinguant les grandeurs stochastiques et non stochastiques ainsi que les méthodes d'évaluation permettant de rendre compte des effets biologiques étudiés.

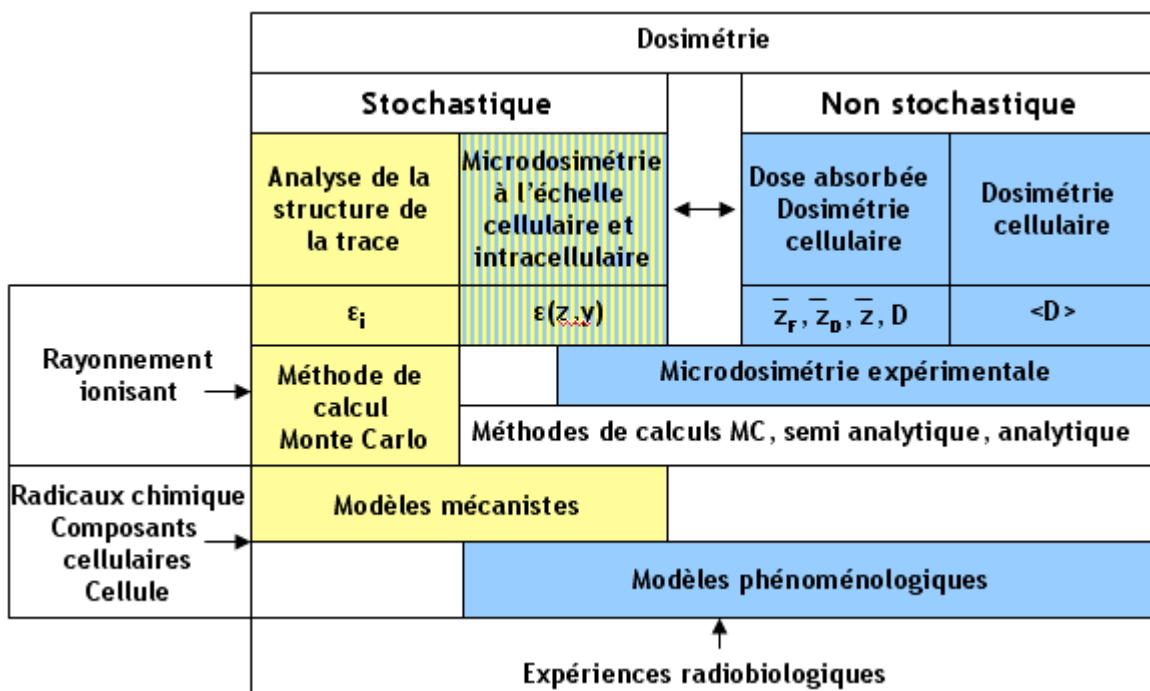


Figure I-10 : Cadre de la dosimétrie [PIH10].

Cette figure met en évidence que les grandeurs moyennes obtenues en dosimétrie (dose absorbée) et microdosimétrie (énergie spécifique moyenne par exemple) sont des grandeurs non stochastiques, obtenues expérimentalement, et reposent essentiellement sur une approche phénoménologique. Cette approche revient à comparer différents rayonnements en fonction de la variation de leur efficacité biologique, l'objectif étant de tenter d'établir une relation entre la variation d'efficacité biologique et la variation de leur signature microdosimétrique. Le caractère stochastique des rayonnements ionisants est quant à lui pris en compte par l'analyse de la structure de la trace obtenus à l'échelle cellulaire et intracellulaire grâce aux simulations Monte Carlo. En effet, le point important que met en avant cette figure est le fait que l'approche mécanistique repose essentiellement sur le calcul de trace dans de très petits volumes. Ainsi la nanodosimétrie va de paire avec une vision complète du mécanisme qui induit les effets biologiques des rayonnements.

Cette approche consiste à mieux comprendre les mécanismes d'action des rayonnements ionisants sur le milieu biologique et met en évidence la nécessité de prendre en compte les différentes étapes entre les toutes premières interactions de la particule dans la matière et l'apparition des effets biologiques (voir section I.3.1).

I.3.1 Interaction des rayonnements ionisants au niveau intracellulaire

Bien que l'apparition des premiers effets biologiques au sein de la cellule puisse n'être visible que longtemps après le passage d'un rayonnement, des dommages sont créés dès les premiers instants. En effet, dès la pénétration d'un rayonnement dans la matière, il interagit avec les molécules du milieu. Mais, entre l'interaction physique du rayonnement et l'apparition des premiers effets biologiques, il se produit une série d'événements que l'on peut répartir en cinq étapes de durées inégales, comme il est schématisé sur la figure I-11 :

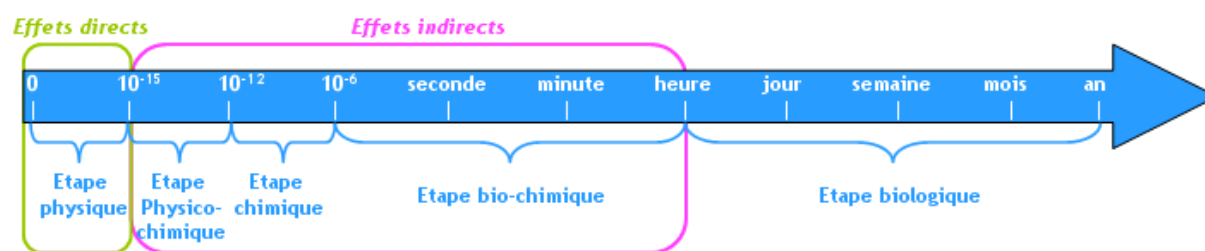


Figure I-11 : Les différentes étapes de l'interaction des rayonnements dans la matière biologique.

- L'**étape physique** correspond à l'étape au cours de laquelle les rayonnements ionisants vont interagir directement avec les composants de la matière vivante par ionisation ou excitation par exemple. Dans notre domaine d'énergie ce sont les interactions électromagnétiques qui dominent la perte d'énergie des projectiles.
- Lors de l'**étape physico-chimique** les différents produits de l'interaction atteignent la température du milieu (thermalisation) et des espèces très réactives sont créées (espèces radicalaires) conduisant à la formation d'électrons thermalisés puis hydratés.
- Pendant l'**étape chimique**, les espèces créées précédemment diffusent et réagissent entre elles. A la microseconde qui suit l'interaction, la distribution des espèces présentes atteint un état stationnaire au sein du milieu, le système entre dans la phase biologique qui débute par une étape biochimique.
- Au cours de l'**étape biochimique**, les espèces radicalaires altèrent chimiquement les biomolécules présentes dans l'environnement et entraînent leur dégradation.

- **L'étape biologique** correspond à l'étape au cours de laquelle les dommages créés pendant les étapes précédentes vont être pris en charge par le système de réparation de la cellule. Les réactions enzymatiques de réparation se mettent en place dans la cellule et plus particulièrement au niveau de l'ADN. Le temps de réparation étant variable, il conduit à l'apparition ou non de lésions moléculaires graves. Les dommages irréparables peuvent conduire à des mutations ou des aberrations chromosomiques voire la mort cellulaire.

I.3.2 Induction des lésions : effets directs et indirects des rayonnements

Quelle que soit la nature du rayonnement incident, l'action de celui-ci est décrite en terme d'effets biologiques directs ou indirects. Les effets directs concernent les dommages produits par les dépôts d'énergie localisés sur la molécule d'ADN tandis que les effets indirects résultent de l'action d'espèces radicalaires produites lors de l'absorption du rayonnement par les molécules environnantes de l'ADN. Ces radicaux portent, sur leur couche périphérique, un ou plusieurs électrons célibataires, c'est-à-dire non couplés à un électron de spin opposé. Cette configuration leur confère une très forte réactivité chimique, qui tend à capturer un électron pour ré-apparier son électron célibataire. Ces radicaux pourront, après diffusion, interagir chimiquement avec l'ADN créant ainsi d'autres dommages indirects.

I.3.2.1 Les effets directs

Les effets directs correspondent à l'étape physique décrite précédemment. Les particules chargées (α , p , e^- ...), interagissant par ionisation ou excitation, vont conduire à une augmentation de l'énergie interne de la molécule. Cet excédant d'énergie pourra être perdu soit par l'émission d'une particule ou d'un photon de fluorescence soit par cassure d'une liaison de covalence et scission de la molécule cible conduisant à la formation de deux radicaux (scission plus probable après une ionisation car l'énergie reçue est plus importante). Il est important de noter que la rupture d'une liaison covalente ne nécessite pas que l'événement physique initial ait porté sur un électron de cette liaison. En effet, l'énergie absorbée peut migrer et la cassure se produira à l'endroit où la liaison est la plus faible.

Néanmoins, l'énergie nécessaire pour induire ce type de lésion demeure une question ouverte au sein de la communauté scientifique et différents seuils en énergie sont utilisés pour la prise en compte des effets directs. En effet, par exemple, dans les travaux réalisés par Nikjoo et al. [NIK01] il est indiquée qu'une énergie minimale de 17,5 eV est nécessaire pour induire un dommage direct, alors que dans les travaux de Friedland et al. [FRI11] c'est une fonction de probabilité linéaire qui est utilisée pour déterminer si un dépôt d'énergie pourra ou non conduire à ce type de dommage.

Les critères utilisés dans ce travail de thèse pour la prise en compte des effets directs seront détaillés dans le chapitre III dans la section dédiée à la présentation de l'algorithme de clusterisation.

I.3.2.2 Les effets indirects

Les effets indirects sur la matière vivante sont caractérisés par le processus de la radiolyse de l'eau et correspondent aux étapes physico-chimiques, chimiques et biochimiques (cf. figure 10). La matière biologique étant constituée d'environ 70% d'eau, la pénétration d'un rayonnement dans celle-ci va entraîner la dissociation de la molécule d'eau conduisant à la formation de radicaux libres [KRE09, LAV93]. Ainsi, dans la suite de cette section nous allons expliciter ces étapes qui ont été introduites dans le code de calcul Geant4 dans le cadre du travail de thèse de M. Karamitros réalisé au CENBG de Bordeaux [KAR11, KAR12].

- Etape physico chimique : cette étape se produit entre 10^{-15} et 10^{-12} seconde après le passage de la particule primaire et englobe les événements les plus rapide (thermalisation, solvation des électrons de subexcitation...) conduisant à la rupture de liaison chimiques. C'est également pendant ce laps de temps que le type et les positions des espèces chimiques rentrant en jeu dans l'étape chimique vont être déterminées. Dans Geant4, cette étape a été introduite en suivant l'approche proposée dans le code PARTRAC [KRE09, PAR12] où les rapports d'embranchement et les distances de thermalisations sont les mêmes quelque soit le type et l'énergie de la particule. Les différentes réactions modélisées, variant en fonction du processus physique et de la couche de la molécule d'eau impactée, sont reportées dans le tableau suivant extrait de la publication de Karamitros et al. [KAR11].

Tableau I-3 : Différentes réactions chimiques prises en compte dans la modélisation en fonction de l'état électronique.

Electronic state	Decay Channel	Fraction (%)
All ionization states	$\text{H}_3\text{O}^+ + \bullet\text{OH}$	100
Excitation state	$\bullet\text{OH} + \text{H}\bullet$	65
A1B1: (1b1) \rightarrow (4a1/3s)	$\text{H}_2\text{O} + \Delta\text{E}$	35
Excitation state	$\text{H}_3\text{O}^+ + \bullet\text{OH} + \text{e}^-_{\text{aq}}$	55
B1A1: (3a1) \rightarrow (4a1/3s)	$\bullet\text{OH} + \bullet\text{OH} + \text{H}_2$	15
	$\text{H}_2\text{O} + \Delta\text{E}$	30
Excitation state:	$\text{H}_3\text{O}^+ + \bullet\text{OH} + \text{e}^-_{\text{aq}}$	50
Rydberg, diffusion bands	$\text{H}_2\text{O} + \Delta\text{E}$	50

- Etape chimique : l'étape chimique se produit quant à elle entre 10^{-12} et 10^{-6} seconde, et, pendant cette étape, les espèces moléculaires vont pouvoir diffuser dans le milieu, interagir dans le milieu ou entre elles. Le modèle développé est un modèle « pas à pas » dont la probabilité d'interaction est recalculée à chaque pas de temps. Dans la modélisation, un pas de temps commence avec le transport d'une espèce le long d'une direction de diffusion. Si la distance entre deux espèces est inférieure au rayon de la réaction correspondante, la réaction se produit et les réactifs sont éliminés et les produits chimiques créés entre dans la simulation. Les réactions chimiques prises en compte dans cette étape, ainsi que leurs taux de réaction, sont reportées dans le tableau suivant extrait de la publication de Karamitros et al. [KAR11].

Tableau I-4 : Reactions chimiques modélisées dans le cadre de l'étape chimique du code Geant4.

Reaction	Reaction rate ($10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$)
$\text{H}^\bullet + \text{e}^-_{\text{aq}} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{OH}^- + \text{H}_2$	2.65
$\text{H}^\bullet + \bullet\text{OH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	1.44
$\text{H}^\bullet + \text{H}^\bullet \rightarrow \text{H}_2$	1.20
$\text{H}_2 + \bullet\text{OH} \rightarrow \text{H}^\bullet + \text{H}_2\text{O}$	4.17×10^{-3}
$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{e}^-_{\text{aq}} \rightarrow \text{OH}^- + \bullet\text{OH}$	1.41
$\text{H}_3\text{O}^+ + \text{e}^-_{\text{aq}} \rightarrow \text{H}^\bullet + \text{H}_2\text{O}$	2.11
$\text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^- \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$	14.3
$\bullet\text{OH} + \text{e}^-_{\text{aq}} \rightarrow \text{OH}^-$	2.95
$\bullet\text{OH} + \bullet\text{OH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	0.44
$\text{e}^-_{\text{aq}} + \text{e}^-_{\text{aq}} + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{OH}^- + \text{H}_2$	0.50

I.4 Rappels de biologie

I.4.1 L'ADN et sa compaction chez les eucaryotes

L'ADN, acide désoxyribonucléique, est l'unité de base des êtres vivants et renferme l'ensemble de l'information nécessaire au développement et au fonctionnement d'un organisme.

Sa découverte a été initiée à partir de 1869 lorsque F. Miescher [DAH05] réussit à isoler une substance riche en phosphore au sein de noyaux cellulaires : la nucléine. La séparation de la nucléine fut réalisée par R. Altman en 1889 [VIG01] qui mit en évidence la présence de protéines et d'une substance acide : l'acide nucléique. La présence des quatre bases azotées, l'adénine (A) et la guanine (G) qui constituent les bases puriques, et, la thymine (T) et la cytosine (C) qui constituent

les bases pyrimidiques, fut découverte par A. Kossel en 1896 [VIG01]. En 1928, P. Levene et J. Lunn identifièrent le 2'désoxy-D-ribose mais il faudra attendre 1935 pour parler de l'ADN [TIP57].

Bien que la composition de l'ADN fût découverte dès 1928, il a fallu attendre 1953 pour que sa structure en double hélice soit mise en évidence par J. Watson et F. Crick grâce à la diffraction des rayonnements X [WAT53].

L'ADN est une macromolécule organisée sous la forme d'un polymère de bases désoxyribonucléiques correspondant aux nucléotides. Le nucléotide est l'assemblage d'un groupement phosphate lié à un désoxyribose (sucre) qui est lui-même lié à une base azotée. Les nucléotides sont liés entre eux par l'intermédiaire de liaisons covalentes qui joignent le sucre à l'acide phosphorique.

Les bases azotées s'associent quant à elles de façon complémentaire, l'adénine sera toujours liée à la thymine par l'intermédiaire de deux liaisons hydrogène tandis que la guanine et la cytosine seront liées entre elles par trois liaisons hydrogène, chacune en raison de sa structure unique. Le squelette de l'ADN est donc composé d'un enchainement non aléatoire de sucre / phosphate correspondant au squelette reliés entre eux par un enchainement aléatoire des paires A-T, T-A, C-G et G-C. Le code génétique porté par une cellule est défini par l'ordre suivant lequel les bases sont liées. Une représentation schématique de la structure de l'ADN est reportée sur la figure I-12 :

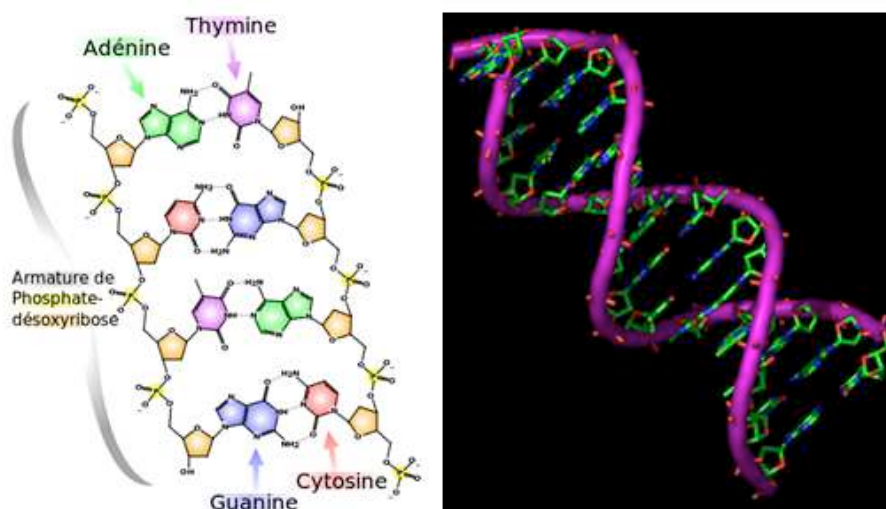


Figure I-12 : Structure de l'ADN [WEB01, WEB02].

L'ADN est donc constitué de deux brins complémentaires liés par l'intermédiaire de liaisons hydrogène reliant les bases azotées, formant ainsi une double hélice droite ayant un diamètre d'environ 2 nm et dont la taille du génome se mesure en nombre de paires de bases.

Dans les cellules humaines, le matériel génétique est constitué d'un assemblage complexe d'ADN et de protéines et est localisé dans les noyaux de quelques micromètres de diamètre et forme la

chromatine. Les 2 mètres d'ADN présents dans chaque cellule sont donc fortement compactés mais, en même temps, doivent demeurer accessibles afin de permettre la bonne réplication, réparation, transcription et recombinaison de celui-ci. Ainsi, l'organisation de la structure de la chromatine peut influencer la fonctionnalité du génome.

L'unité de base de la chromatine est le nucléosome. Il est composé d'une particule cœur et d'une région de liaison (région internucléosomale) qui relie les particules cœur les unes aux autres. La particule cœur correspond à l'enroulement de 146 paires de bases de l'ADN autour d'un cœur protéique de huit protéines histones (4 types d'histones différentes). La région internucléosomale correspond à de l'ADN reliant les particules cœur et dont la longueur varie en fonction de l'espèce et du type cellulaire. Ainsi, la longueur de l'ADN caractéristique d'un nucléosome varie entre 160 et 240 paires de bases selon les types cellulaires. Le nucléosome représente le premier niveau de compaction de l'ADN dans le noyau.

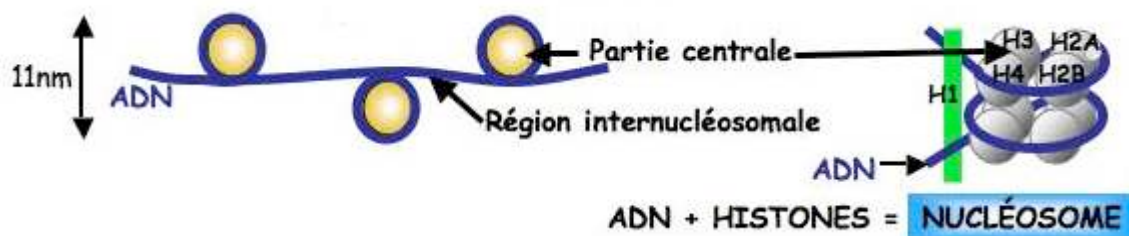


Figure I-13 : Nucléosomes [WEB03].

Cette structure est ensuite régulièrement répétée de manière à former un nucléo-filament, appelé également fibre de 11 nm à cause de son diamètre. L'ADN enroulé de cette manière forme un collier dont les nucléosomes sont les perles. Ce nucléo-filament peut ensuite s'enrouler de manière à former des fibres de chromatine de 30 nm de diamètre [TRE07]. Ces deux types de structures correspondent à deux types de chromatines qui sont l'euchromatine et l'hétérochromatine :

- L'**euchromatine** représente la chromatine décondensée formée de fibres de 11 nm de diamètre et correspond à des zones de gènes actifs (transcription). Elle se présente sous la forme du nucléo filament.
- L'**hétérochromatine** quant à elle représente la chromatine à l'état condensé et correspond à la partie inactive de la chromatine au niveau transcriptionnel. L'hétérochromatine est principalement localisée en périphérie du noyau et se présente sous la forme de fibre d'environ 30 nm de diamètre. Pour cette fibre de chromatine deux modèles sont discutés : la forme solénoïde et la forme zig-zag [ROB06].

Ces deux formes de la chromatine coexistent au sein des noyaux cellulaires et, pendant les différentes étapes du cycle cellulaire, passe d'une forme à l'autre en se condensant et se décondensant. Les deux formes de la chromatine sont un paramètre important à prendre en compte

car il a une influence sur l'induction, la signalisation et la réparation des dommages induits dans l'ADN [FAL08].

En effet, quelques études ont été consacrées à l'investigation de l'induction des cassures double brin de l'ADN, que nous détaillerons dans la section 1.4.3.1, dans les régions euchromatiniennes et hétérochromatiniennes [FAL10, JAK11]. Ces études ont mis en évidence le rôle de la structure de la chromatine sur le mouvement des cassures double brin de l'ADN [FAL10] et la relocalisation de ces dommages initiaux vers la périphérie de l'hétérochromatine conduisant à une décondensation locale de celle-ci [JAK11].

A partir de ces fibres de chromatine, un autre niveau de compaction, plus ou moins condensé, peut être obtenu avec la formation de boucles de chromatine. Ce sont ces boucles de chromatine qui constitueront les territoires chromosomiques. Les chromosomes contiennent les gènes qui sont le support de l'information génétique transmis des cellules mères aux cellules filles lors de la mitose. En effet à chaque division cellulaire, la molécule d'ADN mère est dupliquée en deux molécules d'ADN filles dont chacune hérite d'un brin d'ADN, l'autre brin étant le complémentaire du fait des liaisons possibles entre les bases. Sur la figure I-14, nous avons reporté les différents niveaux de compaction de l'ADN au sein des noyaux cellulaires des cellules eucaryotes.

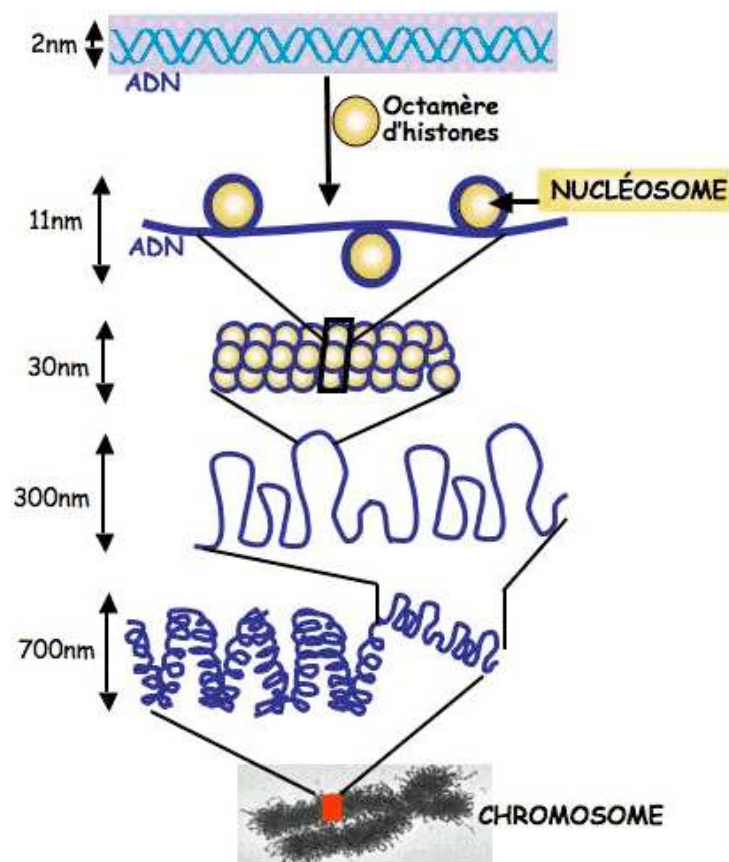


Figure I-14 : Compaction de l'ADN dans les cellules humaines [WEB03].

I.4.2 Les différents types de lésions de l'ADN

Depuis de nombreuses années, il a été mis en évidence que l'ADN est une cible critique des rayonnements ionisants pouvant conduire à l'inactivation de la cellule [GOO94, OLI98]. Les dommages créés au sein de celui-ci sont considérés comme étant le mécanisme principal des effets létaux des rayonnements. Les lésions induites sur la molécule d'ADN peuvent être classées en deux catégories : les lésions majeures et les lésions mineures. Les lésions majeures sont des lésions qui ne sont pas réparables. L'irradiation va dans ce cas induire la mort cellulaire qui peut être soit immédiate, on parle alors de nécrose, soit différée, on parle alors d'apoptose. Les lésions mineures quant à elles sont des lésions qui sont réparables mais le processus de réparation (suture, recombinaison ou excision-resynthèse) peut ne pas être fidèle. Si la réparation n'est pas fidèle, la séquence de gènes sera altérée créant ainsi des mutations géniques entraînant des modifications du patrimoine génétique de la cellule.




Comme nous l'avons vu dans la section I.3.2 les lésions radio-induites de l'ADN vont résulter des dépôts d'énergie localisés soit directement dans l'ADN soit via la formation de radicaux libres. Parmi les lésions de l'ADN, plusieurs vont pouvoir être distinguées : cassures simple ou double brin (SSB et DSB), dommages de bases, les pontages et les lésions multiples localisées.

I.4.2.1 Les cassures de brin

Les cassures de brin sont les lésions le plus souvent induites dans les groupes sucre / phosphate (squelette) et elles sont de deux types : les cassures simple brin et les cassures double brin. Ces lésions surviennent au niveau de la liaison phosphodiester, entre le phosphate et le désoxyribose ou plus fréquemment au niveau de la liaison base / désoxyribose.




- Les **cassures simple brin** (SSB) sont les lésions radio-induites les plus fréquemment rencontrées. Elles sont produites en plus grande quantité lors d'une irradiation à faible TEL comparée à une irradiation à haut TEL (le ratio cassure simple sur cassure double augmente avec la diminution du TEL). Ce sont les lésions les plus facilement et rapidement réparables et ont donc peu d'influence sur la survie cellulaire. Ces cassures peuvent être classées suivant trois catégories [NIK97] comme le montre le tableau I-5 :

Tableau I-5 : Cassures simple brin de l'ADN.

Caractéristique	Représentation	Nom
Dépôt d'énergie localisé à une distance supérieure à 10 paires de base (bp) de tout autre point		SSB
Deux dépôts d'énergie ou plus localisés sur le même brin à une distance inférieure à 10 bp		SSB+
Deux dépôts d'énergie ou plus localisés sur les deux brins à une distance supérieure à 10 bp		SSBs

- Les **cassures double brin (DSB)** correspondent à la rupture simultanée des deux brins de l'ADN, à une distance inférieure à 10 paires de bases. Elle résulte soit de l'action d'une seule particule ionisante, soit de la combinaison de deux cassures simples sur les brins complémentaires induites par deux particules distinctes. Les cassures double brin peuvent être très complexes et sont, par conséquent, difficilement réparables. Ce sont les principales responsables des effets létaux des rayonnements. Dans le tableau I-6, nous avons reporté les différents types de cassures double brin que nous pouvons rencontrer [NIK97].

Tableau I-6 : Cassures double brin de l'ADN.

Caractéristique	Représentation	Nom
Deux dépôts d'énergie localisés sur les deux brins à une distance inférieure à 10 bp		DSB
Plus de deux dépôts d'énergie localisés sur les deux brins à une distance inférieure à 10 bp		DSB+
Plusieurs DSB séparées par une distance inférieure à 10 bp		DSB++

I.4.2.2 Les dommages de bases

Lors du passage d'un rayonnement au sein de la molécule ADN, les bases peuvent être partiellement détruites ou endommagées (méthylation, échange de bases...). Elles subissent préférentiellement l'action du radical OH^\bullet qui conduit à la formation d'hydro-péroxydes en présence d'oxygène. Les bases azotées sont plus ou moins sensibles à ce mécanisme et les bases peuvent être classées par ordre de radiosensibilité : $\text{T} > \text{C} \gg \text{A} > \text{G}$ [AVE08]. Pour dix cassures simple brin, deux à trois modifications de bases sont observées [AVE08].

I.4.2.3 Les destructions des sucres

Les radicaux OH^\bullet peuvent également attaquer les sucres, qui sont par conséquent libérés, et induire ainsi une cassure simple brin ou une altération de celui-ci avec la formation d'un site abasique. Ces dommages sont relativement rares et représentent 0,2 à 0,3 altérations pour 10 cassures simple brin.

I.4.2.4 Les pontages

Les radicaux libres créés lors du passage du rayonnement dans la matière peuvent également contribuer à la formation de pontages intra-chaine (formation de dimère de thymine notamment) ou inter-chaine (pontage ADN-ADN) de l'ADN, c'est-à-dire à la formation de liaison covalente. Des pontages ADN-protéines peuvent également avoir lieu et conduisent à la formation de deux radicaux sur l'ADN et sur les acides aminés des protéines proches de l'ADN.

I.4.2.5 Les lésions multiples localisées

Ces lésions correspondent à des cassures simple ou double brin accompagnées de dommages de bases sur une distance de 1 à 20 nucléotides.

Par conséquent, ces lésions peuvent donc être très complexes et, comme les cassures double brin de l'ADN, elles sont difficilement réparables. Ces lésions vont donc contribuer à la létalité de la cellule mais certaines de ces lésions pourront également conduire à des mutations ou conduire à la cancérisation [AVE08].

I.4.3 Détection des cassures double brin

Dans ce travail de thèse, nous visons particulièrement à être en mesure de calculer par simulation Monte Carlo les cassures double brin de l'ADN qui peuvent être produites par différents types de rayonnements. Notre objectif est étroitement lié au fait que ce type de dommages importants pour le devenir de la cellule peut également être détecté expérimentalement. L'une des dernières techniques de détection et de quantification de ces lésions est l'immunofluorescence H2AX. Dans la section I.4.1., nous avons vu que l'ADN s'enroule autour de protéines appelées histone pour former un nucléosome. L'histone est composée en réalité de 4 protéines de cœur (H2A, H2B, H3 et H4) qui sont répétées deux fois et d'une protéine de « lien » (H1) qui permet de stabiliser et de relier les nucléosomes entre eux.

Parmi ces protéines, il existe une variante de la protéine H2A appelée H2AX, représentant entre 2 à 25 % de l'histone H2A [ROG98, RED02] et, en principe, uniformément répartie dans le noyau cellulaire, qui permet de détecter les cassures double brin de l'ADN grâce à sa phosphorylation (environ 1 nucléosome sur 5 chez les mammifères). Cette phosphorylation est mise en évidence à l'aide d'anticorps spécifiques, contenant une substance fluorochrome, faisant ainsi apparaître les cassures double brin sous forme de points lumineux appelés « foci » comme nous le montre la figure I-15.



Figure I-15 : Signalisation des cassures doubles brin de l'ADN détectés lors des expériences de radiobiologie avec des neutrons (à droite) et des photons (à gauche).

Dans le cas de l'irradiation avec des photons, nous pouvons constater que la répartition des foci est uniforme tandis que dans le cas de l'irradiation avec des neutrons nous observons des foci plus gros et il est possible de suivre la trace de la particule directement sur l'image. Ainsi pour des particules de différents TEL, nature et mécanismes de réparation, les dommages radio-induits pourront être de nature différente et pourront, peut être, avoir différentes conséquences. Comme nous l'avons dit en introduction de ce chapitre, la détection des foci est réalisée par le Laboratoire de Dosimétrie Biologique de l'IRSN (PRP-HOM/SRBE/LDB).

I.5 Objectifs du travail de thèse

La problématique liée à l'étude des effets des rayonnements ionisants au niveau intracellulaire a été présentée dans ce chapitre. Nous avons pu mettre en évidence la nécessité de connaître le détail des dépôts d'énergie au niveau nanométrique pour évaluer leurs impacts au niveau intracellulaire et plus particulièrement sur la molécule d'ADN qui est la cible critique des rayonnements ionisants dans le cadre de notre étude.

L'étude de l'interaction de différents types de rayonnements afin de pouvoir caractériser leurs impacts sur la molécule ADN est un domaine de la dosimétrie pour lequel la structure de l'ADN et de sa conformation au sein des noyaux cellulaires est aussi importante que la simulation des interactions des particules elles-mêmes.

Dans ce contexte, le premier objectif de mon travail de thèse a été d'implémenter une géométrie détaillée des constituants élémentaires des noyaux cellulaires. Pour cela nous avons implémenté, au sein du code de calcul Geant4, les différents éléments conformant la structure de l'ADN tel que présenté dans la section I.4.1.

Grâce à l'implémentation de cette géométrie, nous pouvons localiser avec précision les dépôts d'énergie situés dans certaines régions telles que les bases ou les groupes sucre/phosphate, qui constituent l'ADN, et par conséquent déterminer la nature, la position et l'énergie déposée ayant contribué à la formation des dommages au sein de notre géométrie.

Un autre atout majeur de notre géométrie est qu'elle est directement implémentée dans le code de calcul Geant4 choisi pour réaliser les modélisations. Actuellement, seules les sections efficaces de l'eau liquide sont disponibles dans Geant4-DNA, par conséquent notre géométrie n'est composée que de ce matériau. L'induction des dommages radio-induits au sein de notre géométrie ne repose donc que sur des paramètres géométriques, liés à la position et aux dimensions de l'ADN dans le noyau. Néanmoins, l'implémentation des sections efficaces pour les bases azotées de l'ADN et des groupes sucre / phosphate dans Geant4 est en cours (Geant4-DNA [CHA09, CHA12] et projet européen BioQuaRT auquel participe le laboratoire [WEB04]). A partir de ces nouvelles données la géométrie pourra également être utilisée pour séparer de manière non homogène et réaliste les différents matériaux composants le noyau cellulaire pour l'évaluation des dommages radio-induits.

De plus, grâce à l'implémentation de deux types de noyaux cellulaires n'ayant pas le même volume, et par conséquent n'ayant pas la même densité d'ADN nous avons pu étudier l'influence de ce paramètre sur la quantité et la complexité des dommages radio-induits. Les simulations avec différents types de rayonnements nous ont également permis d'étudier l'influence de la qualité du rayonnement sur la nature et la complexité des lésions radio-induites.

Dans la section I.4, nous avons présenté l'influence de la structure de la chromatine sur l'induction, la signalisation et la réparation des dommages créés dans l'ADN. Ainsi nous avons également réalisé

l'implémentation des deux formes de la chromatine dans Geant4 de manière à évaluer l'influence de ce paramètre sur l'induction des dommages. Nos résultats seront présentés au chapitre IV.

I.6 Références

[AVE08]

D. Auerbeck.

Livre : Radiobiologie: radiothérapie et radioprotection, bases fondamentales.

Edition Hermann (2008).

[BED02]

J. S. Bedford and W.C. Dewey.

Historical and current highlights in radiation biology: Has anything important been learned by irradiating cells ?

Radiation Research 158 (2002) 251-291.

[CHA09]

C. Champion, S. Incerti, H. Aouchiche, D. Oubaziz.

A free parameter theoretical model for describing the electron elastic scattering in water in Geant4 toolkit.

Radiations Physics and Chemistry 78 (2009) 745-750.

[CHA12]

C. Champion, S. Incerti, H. Tran, Z. El Bitar.

Electron and proton elastic scattering in water vapour.

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 273 (2012) 98-101.

[CIPR60]

International commission on radiobiological protection. Recommendations of the international commission on radiological protection.

ICRP publication 60. Oxford: Pergamon (1990).

[CIPR103]

International commission on radiobiological protection. Recommendations of the international commission on radiological protection.

ICRP publication 103. Oxford: Pergamon (2007).

[CHO97]

H. de Choudens, G. Troesch.

Radioprotection dans les installations nucléaires.

Livre, eds Lavoisier (1997) 284-288.

[DAH05]

R. Dahm.

Friedrich Miescher and the discovery of DNA.

Developmental Biology 278 (2005) 274-288.

[FAL08]

M. Falk, E. Lukasova, S. Kozubek.

Chromatin structure influences the sensitivity of DNA to γ -radiation

Biochimica et Biophysica Acta 1783 (2008) 2398-2414.

[FAL10]

M. Falk, E. Lukasova, S. Kozubek.

Higher order chromatin structure in DSB induction, repair and misrepair

Mutation Research 704 (2010) 88-100.

[FRI11]

W. Friedland, M. Dingfelder, P. Kundrat and P. Jacob.

Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC.

Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 711 (2011) 28-40.

[GOO94]

D.T. Goodhead.

Initial events in the cellular effects of ionizing radiations: clustered damage in DNA.

International Journal of Radiation Biology 65 (1994) 7-17.

[GOO06]

D.T. Goodhead.

Energy deposition stochastics and track structure: what about the target.

Radiation Protection Dosimetry 122 (2006) 3-15.

[ICRU36]

Microdosimetry.

International Commission on Radiation Units and measurements, Report 36 (1983).

[ICRU51]

Quantities and units in radiation protection dosimetry.

International Commission on Radiation Units and measurements, Report 51 (1993).

[JAK11]

B. Jakob, J. Splinter, S. Conrad, K. Voss, D. Zink, M. Durante, M. Lobrich G. Taucher-Scholz.

DNA double strand breaks in heterochromatin elicit fast repair protein recruitment, histone H2AX phosphorylation and relocation to euchromatine

Nucleic Acids Research 39 (2011) 6489-6499.

[KAR11]

M. Karamitros et al.

Modeling radiation chemistry in the Geant4 toolkit.

Nuclear Science and Techniques 2 (2011) 503-508.

[KAR12]

M. Karamitros.

Extension de l'outil Monte Carlo généraliste Geant4 pour la simulation de la radiolyse de l'eau dans le cadre du projet Geant4-DNA

Rapport de thèse, Université Bordeaux 1 (2012).

[KEL75a]

A. M. Kellerer and D. Chmelevsky.

Concepts of microdosimetry I: quantities.

Radiation and Environmental Biophysics 12 (1975) 61-69.

[KEL75b]

A. M. Kellerer and D. Chmelevsky.

Concepts of microdosimétrie II: Probability distributions of the microdosimetric variables.

Radiation and Environmental Biophysics 12 (1975) 205-216.

[KEL75c]

A. M. Kellerer and D. Chmelevsky.

Concepts of microdosimétrie III: Mean values of the microdosimetrics distributions.

Radiation and Environmental Biophysics 12 (1975) 321-335.

[KEL85]

A. M. Kellerer.

Fundamentals of microdosimétrie.

The dosimetry of ionising radiation 1 (1985).

[KEL90]

A. M. Kellerer.

A generalised formulation of microdosimetric quantites.

Radiation Protection Dosimetry 31 (1990) 9-16.

[KRE09]

M. S. Kreipl, W. Friedland, H. G. Paretzke.

Time and space resolved Monte Carlo study of water radiolysis for photon, electron and ion irradiation.

Radiation and Environmental Biophysics 48 (2009) 11-20.

[LAV93]

J. A. La Verne, S. M. Pimblott.

Yields of hydroxyl radical and hydrated electron scavenging reactions in aqueous solutions of biological interest.

Radiation Research 135 (1993) 16-23.

[NIK97]

H. Nikjoo, P. O'Neill, D.T. Goodhead, M. Terrissol.

Computational modelling of the low energy electron induced DNA damage by early physical and chemical events.

International Journal of Radiation Biology 71 (1997) 467-483.

[NIK01]

H. Nikjoo, P. O'Neill, W.E. Wilson, D.T. Goodhead.

Computational approach for determining the spectrum of DNA damage induced by ionizing radiation.

Radiation Research 156 (2001) 577-583.

[OLI98]

P. Olive.

The role of DNA single and double strand breaks in cell killing by ionizing radiation.

Radiation Research 150 (1998) S42-S51.

[PIH89]

P. Pihet.

Etude microdosimétrique des faisceaux de neutrons de haute énergie. Applications dosimétriques et radiologiques.

Université catholique de Louvain (1989).

[PIH10]

P. Pihet.

Dose absorbée et dépôts d'énergie à l'échelle microscopique.

Rapport interne IRSN (2010).

[RED02]

C. Redon, D. Pilch, E. Rogakou, O. Sedelnikova, K. Newrock, W. Bonner.

Histone H2A variants H2AX and H2AZ.

Current Opinion in Genetics & Development 12 (2002) 162-169.

[ROB06]

P. JJ. Robinson and D. Rhodes.

Structure of the '30 nm' chromatin fibre: a key role for the linker histone.

Structural Biology 16 (2006) 336-343.

[ROG98]

E. P. Rogakou, D. R. Pilch, A. H. Orr, V. S. Ivanova, W. M. Bonner.

DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139.

The Journal of Biological Chemistry 273 (1998) 5858-5868.

[ROS59]

H. H. Rossi.

Specification of radiation quality.

Radiation Research 10 (1959) 522-531.

[ROS60]

H. H. Rossi.

Spatial distribution of energy deposition by ionizing radiation.

Radiation Research Supplement 2 (1960) 290-299.

[ROS61]

H. H. Rossi, M. H. Biavati and W. Gross.

Local energy density in irradiated tissues.

Radiation Research 15 (1961) 431-439.

[ROS67]

H. H. Rossi.

Energy distribution in the absorption of radiation.

Advances in Biological and Medical Physics 11 (1967) 27-85.

[ROS68]

H. H. Rossi.

Microscopic energy distribution in irradiated matter.

Radiation Dosimetry 1, Academic press New York, eds F. H. Attix and W. C. Roesch (1968).

[ROS79]

H.H. Rossi.

The role of microdosimetry in radiobiology.

Radiation and Environmental Biophysics 17 (1979) 29-40.

[ROS86]

H. H. Rossi.

Fifth gray lecture. Radiation quality.

Radiation Research 107 (1986) 1-10.

[ROS91]

H. H. Rossi and M. Zaider.

Elements of microdosimetry.

Medical Physics 18 (1991) 1085-1092.

[TIP57]

R. S. Tipson.

Phoebus Aaron Theodor Levene, 1869 - 1940.

Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry 12 (1957) 1-12.

[TRE07]

D. J. Tremethick.

Higher order structures of chromatin: the elusive 30 nm fiber.

Cell 128 (2007) 651-654.

[VIG01]

P. Vignais.

La biologie des origines à nos jours. Une histoire des idées des hommes.

Livre, eds Sciences (2001).

[WAT53]

J. D. Watson and F. H. C. Crick.

Molecular structure of nucleic acids: a structure for the Desoxyribose Nucleic Acid.

Nature 171 (1953) 737-738.

[WEB01]

http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Fichier:DNA_chemical_structure-1-.fr.svg&page=1

[WEB02]

<http://portail2012.files.wordpress.com/2011/05/adn.gif>

[WEB03]

http://www.facbio.com/content/index.php?option=com_content&task=view&id=45&Itemid=71

[WEB04]

<http://www.ptb.de/emrp/bioquart-home.html>

CHAPITRE II- LE CODE DE CALCUL

Ce chapitre est consacré à la présentation du code de calcul utilisé pour réaliser les simulations Monte Carlo dans le cadre de ce travail de thèse.

Dans un premier temps, nous allons tout d’abord présenter le principe de base de la méthode Monte Carlo sur laquelle repose le code de calcul que nous avons utilisé. Ensuite nous donnerons un aperçu des différents codes Monte Carlo utilisés pour le transport des particules dans la matière. Nous montrerons également quelles sont les limitations de certains de ces codes pour leur application à notre sujet d’étude et les caractéristiques des codes Monte Carlo dédiés au calcul de la structure des traces des rayonnements ionisants.

La deuxième section de ce chapitre sera consacrée à la présentation du code Geant4 qui a été retenu pour effectuer les modélisations. L’architecture et les fonctionnalités de ce code seront présentées.

Enfin nous détaillerons plus particulièrement les processus physiques appelés Geant4-DNA qui représentent une extension aux faibles énergies de Geant4 et qui permettent de simuler le transport des particules de manière discrète dans la matière avec les détails des dépôts d’énergie dans de très petits volumes tels que l’ADN.

II.1 La méthode Monte Carlo

La méthode Monte Carlo désigne une méthode permettant de calculer une valeur numérique à partir de techniques basées sur la génération de nombres aléatoires. C’est une méthode de résolution numérique statistique permettant d’estimer les grandeurs physiques par la moyenne des résultats de calculs d’intégrales pour un grand nombre d’histoires stochastiques.

De nos jours, ces méthodes de calcul sont utilisées dans de nombreux domaines d’activité tels que, par exemple, la finance (évolution d’un produit financier), la métrologie ou encore la physique (par exemple le transport de particules).

II.1.1 Base historique

L’une des premières expériences historiques célèbres, montrant la capacité d’un calcul stochastique, est celle de « l’aiguille de Buffon », en 1777, permettant de déterminer une valeur approchée du nombre π à l’aide d’expériences répétées [BUF77]. Néanmoins, ce n’est qu’à partir de la fin de la seconde guerre mondiale que les techniques Monte Carlo ont véritablement pris le statut de méthode. L’essor de cette méthode, développée Von Neumann, Ulman et Metropolis, est lié aux recherches menées dans le cadre du projet « Manhattan » concernant le développement de

la bombe atomique [MET53, LES62]. Cette époque correspond également à la construction des premiers ordinateurs. En effet, à l'origine, la méthode Monte Carlo consistait à simuler sur ordinateur le phénomène stochastique de diffusion des neutrons dans un matériau fissile, le développement de ces méthodes est donc étroitement lié aux développements informatiques.

A l'origine, les codes de calcul Monte Carlo ont donc été développés pour les applications militaires, néanmoins, leur utilisation s'est considérablement développée ces soixante dernières années notamment dans le domaine médical et de la radioprotection de manière à simuler le transport des particules dans la matière et ainsi d'estimer, par exemple, la dose déposée dans un organe.

II.1.2 Principe

Le principe des méthodes Monte Carlo est d'évaluer une valeur numérique à l'aide de processus aléatoires. Ces méthodes sont un atout majeur lorsque les techniques analytiques ne peuvent pas être utilisées en raison de la complexité des problèmes mathématiques. L'utilisation de cette méthode nécessite donc que le problème soit reformulé en termes de probabilités et de nombres aléatoires équidistribués décrivant les processus stochastiques. Cette méthode peut être vue comme une méthode d'approximation au sens statistique du terme.

Cette méthode s'applique particulièrement bien pour le transport des particules dans la matière où l'on suit une particule à la fois. Par exemple, une particule primaire, au cours de son transport, va subir de nombreuses interactions et par conséquent va perdre de l'énergie. Cette énergie sera déposée à l'endroit de l'interaction et dans certains cas, des particules secondaires seront créées. Les particules secondaires vont être stockées afin d'être traitées quand le transport de la particule primaire sera terminé. Chaque ensemble particule primaire + particules secondaires forme une histoire stochastique. L'histoire d'une particule peut donc se résumer en une succession de tirages aléatoires liés à la détermination de l'énergie, la trajectoire, le parcours ou le mode d'interaction avec le milieu traversé.

Mathématiquement les interactions rayonnement / matière sont définies sous la forme de fonctions de probabilité de variables aléatoires. Ces fonctions sont déterminées à partir des sections efficaces d'interaction.

En effet, si l'on considère un faisceau de N particules par seconde bombardant une cible suffisamment mince pour qu'une particule incidente n'interagisse au maximum qu'une fois, on peut déterminer le nombre dN de particules ayant subi une réaction donnée (ionisation, excitation...) :

$$dN = -N\rho \frac{N_A}{A} \sigma_i dx \quad (II.1)$$

avec ρ la masse volumique de l'élément composant la cible, N_A le nombre d'Avogadro, A le nombre de masse de la cible, dx l'épaisseur de la cible et σ_i la section efficace partielle correspondant à la réaction considérée i exprimée en barn ($1 \text{ barn} = 10^{-24} \text{ cm}^2$). Cette section efficace rend compte de la probabilité d'interaction de la particule avec la cible.

La section efficace totale sera obtenue en sommant toutes les sections efficaces partielles résultant de chaque type d'interaction qu'une particule peut subir :

$$\sigma_{\text{tot}} = \sum_i \sigma_i \quad (\text{II.2})$$

Les sections efficaces d'interaction établissent les distributions de probabilité associées aux variables aléatoires. Elles sont obtenues à partir de modèles empiriques, semi empiriques ou théoriques et incluses dans le code soit sous forme d'équation, soit sous forme de tables pour être utilisées à chaque tirage aléatoire (cf. section II.3).

En intégrant l'expression II.1 et en prenant en compte toutes les interactions possibles des particules, on peut obtenir le nombre de particules restant dans le faisceau après avoir parcouru une distance x :

$$N(x) = N_0 \exp\left(-\rho \frac{N_A}{A} \sigma_{\text{tot}} x\right) = N_0 \exp(-\rho n \sigma_{\text{tot}} x) = N_0 \exp\left(-\frac{x}{\lambda}\right) \quad (\text{II.3})$$

Avec : $\lambda = \frac{1}{\rho n \sigma_{\text{tot}}}$, libre parcours moyen, correspondant à la valeur moyenne parcourue entre deux interactions.

II.1.3 Les codes Monte Carlo utilisés pour le transport des particules dans la matière

De nos jours, les codes de calcul de type Monte Carlo sont un outil incontournable pour les simulations dans de nombreux domaines de la physique tels que la physique médicale, la radioprotection ou la radiobiologie qui nous intéresse plus particulièrement dans ce travail. Une liste des principaux codes existants pour la simulation des particules dans la matière est donnée dans le tableau II-1, extrait de la publication de H. Nikjoo de 2006 [NIK06].

Tableau II-1 : Liste des codes généralistes de transport de particules de type Monte Carlo [NIK06].

Code	Particle	Medium	Energy range ^a	Reference
ETRAN	e ⁻ and photon	All	10 keV–1 GeV	Berger and Seltzer (1973)
EGS4	e ⁻ and photon	All	10 keV–1 GeV	Nelson et al. (1985)
FLUKA	p,n, meson	All	1 keV–GeV	Fasso et al. (2005)
GEANT4	p,n, meson	All	250 eV–GeV	Agostinelli et al. (2003)
MCEP	e ⁻ photon	All	1 keV–30 MeV	Uehara (1986)
MCNP5	n, photon, e ⁻	All	See ref.	Goorley et al. (2003)
MCNPX	n, light ions	All	See ref.	Hendricks et al. (2005)
PENELOPE	e ⁻ and e ⁺	All	100 eV–1 GeV	Salvat et al. (2003)
PHITS	HZE	All	MeV–GeV	Iwase et al. (2002)
PEREGRINE	e ⁻ and photon	All	Therapy beams	Hartmann Siantar and Moses (1998)
PTRAN	Protons	Water	<250 MeV	Berger (1993)
SRIM	All ions	All	keV–2 GeV/u	Ziegler et al. (2003)
SHIELD-HIT	1 < Z < 10	All	1 MeV/u–1 TeV/u	Gudowska et al. (2004)

Parmi ces codes de calcul, nous remarquons MCNP [BRE00] / MCNPX [HEI06] qui sont largement utilisés dans le monde. MCNP [BRE00], développé par le laboratoire de Los Alamos aux Etats-Unis, est utilisé dans de nombreux domaines d'activité mais notamment en radioprotection ou pour les simulations des interactions dans les réacteurs ou autres installations nucléaires. MCNPX [HEI06], quand à lui, est une version étendue de MCNP qui permet le transport de 34 types de particules différentes (π , ions légers, ions lourds...) contrairement à MCNP où seules les simulations avec des photons, neutrons et électrons sont possibles.

Un autre code très répandu et couvrant une large gamme de domaines d'applications est le code FLUKA, développé à l'INFN (Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Italie) [FER11]. Ce code est utilisé dans les domaines de la physique des hautes énergies, l'étude des rayons cosmiques ou encore la dosimétrie grâce à la possibilité de simuler environ 60 types de particules différentes ayant des énergies comprises entre 1 keV et 1 GeV.

Nous pouvons également citer PEREGRINE et PENELOPE qui sont des codes plutôt dédiés au domaine de la physique médicale. PEREGRINE, développé au Lawrence Livermore National Laboratory (Californie) [HAR94], a été conçu pour la planification de traitements par radiothérapie. Il permet de calculer les distributions de dose pour les thérapies réalisées avec des photons, des électrons, des neutrons et des protons. Le code PENELOPE, développé à l'université de Barcelone [SAL11], permet quant à lui la simulation du transport des électrons et des photons de 100 eV à 1 GeV dans des matériaux simples ($1 < Z < 92$) et des matériaux composites comme les alliages ou les os. Ainsi, en descendant jusqu'à des énergies de 100 eV pour la simulation des électrons et des photons, ce code nous permet d'avoir une résolution micrométrique.

Néanmoins ces codes de calcul sont des codes dits « généralistes » et ne permettent pas de simuler les transferts d'énergie dans de très petits volumes tels que l'ADN qui nous intéresse ici (échelle nanométrique). En effet, ces codes de transport de particule ne simulent pas explicitement toutes les interactions possibles qu'une particule peut subir ou engendrer (et en particulier celles des électrons) et par conséquent adoptent un compromis entre le temps d'exécution, l'énergie minimale pour le transport des particules et la précision nécessaire. Cette méthode porte le nom

« d'histoire condensée ». Elle a été introduite dans les années 60 par Berger [BER63, SAL99] et consiste à regrouper les interactions individuelles en étapes globales pendant lesquelles l'énergie déposée, le déplacement et la direction sont échantillonnés à partir de distributions appropriées. Conformément à la classification faite par Berger, on différencie deux classes de codes : les codes de classe 1 qui n'utilisent que la méthode condensée et les codes de classe 2, codes mixtes, associant la méthode condensée à la méthode détaillée.

- **Codes de classe 1** : Dans cette méthode, la trace de la particule est divisée en plusieurs segments de même longueur, « steps », dans lesquels de nombreuses interactions de la particule primaire et des particules secondaires peuvent se produire. La production des particules secondaires est prise en compte globalement après chaque étape par une distribution de perte d'énergie de la particule primaire. La perte d'énergie et la déflexion angulaire globale de la particule, dues aux interactions pendant le pas, sont échantillonnées à partir de théories de diffusion multiple appropriées. Par exemple, les codes MCNP et ETRAN utilisent cette méthode.
- **Codes de classe 2** : Dans cette méthode, les interactions sont regroupées en deux catégories : les interactions dites « catastrophiques » et les interactions dites « faibles » séparées par un seuil ou une coupure. Les événements de perte d'énergie et/ou déflexion angulaire inférieures à ce seuil, interactions faibles, sont traités par la méthode condensée tandis que ceux supérieures au seuil, interactions catastrophiques, sont tous simulés explicitement. Parmi les codes utilisant cette méthode, on peut distinguer les codes EGS, PENELOPE ou Geant4.

Dans le cadre d'applications au niveau cellulaire voire subcellulaire, il est nécessaire de connaître avec précision la nature et la topologie des dépôts d'énergie. Les électrons étant les principaux responsables des dépôts d'énergie dans l'ADN, il est nécessaire de décrire de manière précise leur parcours dans la matière et ceci jusqu'à leur arrêt. Ainsi, toutes les particules doivent être suivies pas à pas dans la matière et l'utilisation d'un code généraliste (classe 1) n'est pas adaptée. Depuis ces dernières décennies, de nombreux codes dédiés à ces applications spécifiques ont été développés, H. Nikjoo a référencé en 2006 la plupart de ceux-ci dans sa publication consacrée aux codes de calcul Monte Carlo dédiés aux simulations de la structure des traces pour la recherche en radiobiologie [NIK06]. D'après cette publication, une liste de ces codes est reportée dans le tableau II-2.

Tableau II-2 : Liste des codes de calcul Monte Carlo appropriés pour les modélisations biophysiques à l'échelle moléculaire [NIK06].

Code	Particle	Energy range	Cross-section database ^a	Reference
CPA100 ^{b,c}	e ⁻	≥ 10 eV–100 eV e ⁻	Wat. (l)	Terrissol and Beaudre, 1990
DELTA ^c	e ⁻	≥ 10 eV–10 keV e ⁻	Wat. (v)	Zaider et al. (1983)
ETRACK ^c	e ⁻ , p, α	≥ 10 eV–10 keV e ⁻	Wat. (v)	Ito (1987)
KURBUC ^c	e ⁻	≥ 10 eV–10 MeV e ⁻	Wat. (v)	Uehara et al. (1993)
LEEPS	e ⁻ , e ⁺	0.1–100 keV	Many materials	Fernandez-Varea et al. (1996)
LEPHIST ^c	p	≥ 1 keV–1 MeV	Wat. (v)	Uehara et al. (1993)
LEAHIST ^c	α	≥ 1 keV/u–2 MeV/u	Wat. (v)	Uehara and Nikjoo (2002a)
MC4	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0.3 MeV/u	Wat. (v,l)	Emfietzoglou et al. (2003)
NOTRE DAME ^c	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0.3 MeV/u	Wat. (v,l)	Pimblott et al. (1990)
OREC ^c	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0.3 MeV/u	Wat. (v,l)	Turner et al. (1983)
PARTRAC ^{b,c}	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0.3 MeV/u	Wat. (v,l)	Friedland et al. (2003)
PITS04 ^b	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0.3 MeV/u	Wat. (l)	Wilson et al. (2004)
PITS99 ^c	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0.3 MeV/u	Wat. (v)	Wilson and Nikjoo (1999)
SHERBROOKE ^c	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0.3 MeV/u	Wat. (v,l)	Cobut et al. (2004)
STBRGEN ^c	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0.3 MeV/u	Wat. (v,l)	Chatterjee and Holley (1993)
TRION	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0.3 MeV/u	Wat. (v,l)	Lappa et al. (1993)
TRACEL ^c	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0.3 MeV/u	Wat. (v,l)	Tomita et al. (1997)

^aNomenclatures 'l' and 'v' have been used for liquid and vapor. In reality it is not easy to distinguish between these modes as experimental cross-sections for water have been measured only in water vapor or ice phase (see Section 7).

^bThese codes have implemented the theoretical model of liquid water by Dingfelder et al. (1998).

^cThese codes have extension for generating distribution of radicals at 10⁻¹² s and later times.

Ces codes permettent de suivre de façon discrète, « pas à pas », le transport des particules dans un milieu. Bien que cette méthode soit pénalisante au niveau du temps de calcul, ces codes se révèlent incontournables pour l'étude des effets biologiques des rayonnements ionisants à l'échelle micrométrique et nanométrique. Néanmoins, nous pouvons constater que le code Geant4-DNA ne figure pas dans ce tableau. En effet, le code Geant4 a été récemment étendu de manière à pouvoir être utilisé pour les applications micro et nano dosimétriques grâce à l'implémentation de nouveaux processus physiques dans le cadre du projet « Geant4-DNA » initié en 2001 par P. Nieminen de l'Agence Spatiale Européenne. Les interactions des particules et les sections efficaces d'interaction correspondantes à cette échelle n'ont été disponibles qu'à partir de 2007, c'est donc la raison pour laquelle le code Geant4 ne figure dans cette publication de 2006.

Parmi les codes présentés dans le tableau précédent, nous pouvons citer plus particulièrement le code développé par W. Friedland et ses collaborateurs : PARTRAC [FRI11] qui permet d'aller très loin dans la simulation des dommages radio-induits grâce à l'implémentation des étapes physique, physico-chimique et chimique ainsi qu'un processus de réparation des dommages de l'ADN. L'intégralité de ce code est écrite en FORTRAN et son architecture est organisée en plusieurs modules, les données de sortie d'un module étant les données d'entrée du suivant comme il est représenté sur la figure II.1. Dans cette figure, nous pouvons distinguer : les modules concernant la structure de la cible (rose) et les sections efficaces (gris) qui sont les modules d'entrée utilisés pour la simulation de la trace physique des particules (bleu) et de l'étape chimique (bleu) et la réponse biologique (jaune) [FRI11].

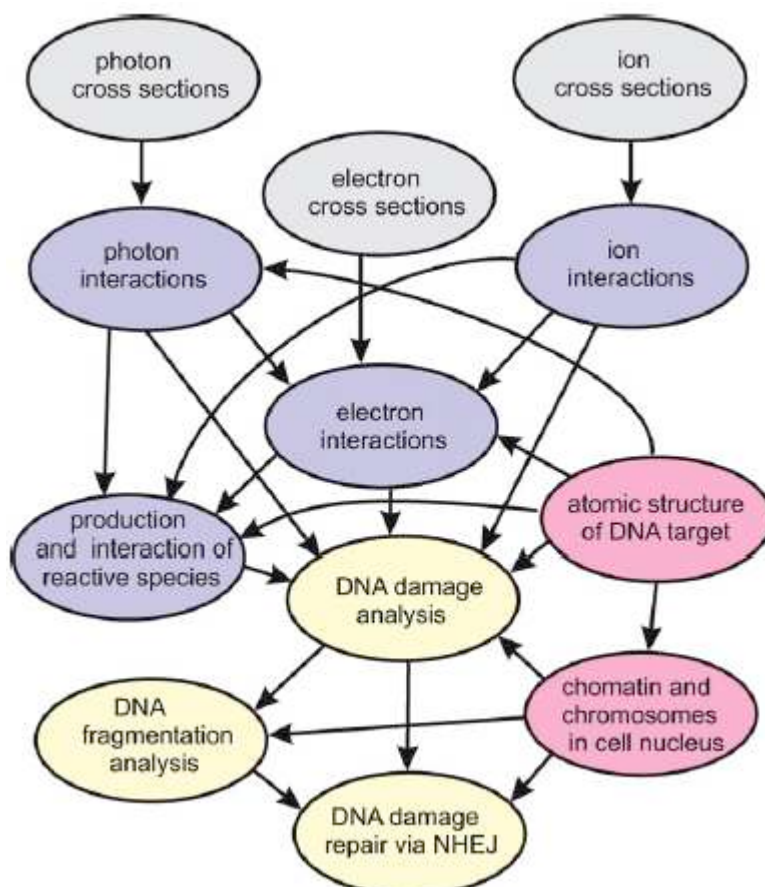


Figure II-1 : Schéma de principe du code PARTRAC et interactions entre les différents modules [FRI11].

Au départ, PARTRAC ne permettait que de simuler le parcours des électrons à partir des sections efficaces obtenues dans l'eau à l'état de vapeur [PAR87, PAR91]. Il a ensuite été étendu de manière à pouvoir simuler l'interaction des photons [HEN92] et des ions [DIN00] dans l'eau liquide [DIN98]. Parallèlement à ces développements, un modèle géométrique détaillé de l'ADN d'un noyau cellulaire a été implémenté pour étudier les effets biologiques radio-induits, comme c'est le cas dans ce travail. D'autres codes tels que KURBUC [UEH93] ou PHITS [WIL99, WIL04] utilisent également des modèles géométriques représentant le génome complet de noyaux cellulaires. Ces différents modèles géométriques seront détaillés dans le chapitre suivant consacré à la géométrie.

Les processus nécessaires à la simulation des étapes physico-chimique et chimique ont également été introduits [BAL00] et plus récemment, la simulation d'un processus de réparation des cassures double brin de l'ADN par NHEJ (Non Homologous End Joining) a été ajouté [FRI10].

Dans PARTRAC comme dans la plupart des codes listés sur le tableau II-2, les sections efficaces d'interaction utilisées ont été obtenues pour l'eau liquide. En effet, il est très difficile d'obtenir des données expérimentales sur les sections efficaces d'interactions dans les biomolécules composant l'ADN car il est très difficile d'obtenir des cibles très fines à l'état solide permettant la

mesure des sections efficaces. Ainsi, de manière à simuler l'interaction des particules dans la matière biologique il a été nécessaire de trouver un compromis pour la simulation. Néanmoins, l'eau liquide représentant plus de 70 % de la masse de la cellule, à l'échelle micrométrique, l'énergie absorbée par l'eau liquide est une bonne représentation de la totalité de l'énergie déposée dans la matière biologique. Il faut néanmoins remarquer que les sections efficaces utilisées dans les codes pour l'eau liquide dérivent uniquement de deux collections de données : celles de Heller [HEL74] et celles obtenues par Hayashi et ses collaborateurs [HAY98]. Les données optiques de Heller [HEL74], datant de plus de trente ans, ont servi de base à un grand nombre d'études. Ces données couvrent une gamme en énergie de 7 à 25 eV, qui, bien que limitée, englobe la partie la plus importante des pertes de valence exceptées la couche K et la couche 2a1 (cf. section II.3). Plus récemment, des données optiques pour l'eau liquide ont été obtenues par Hayashi et al. [HAY98] et couvre un plus large domaine en énergie (~ 200 eV). Nous reviendrons sur l'utilisation de ces différents jeux de données dans Geant4-DNA dans la section II.3.

En outre, des données expérimentales sur les sections efficaces d'interaction dans la matière biologique existent (obtenues en phase vapeur) et les modèles théoriques correspondants sont en cours d'élaboration [CHA13]. Dans le cadre du projet européen BioQuaRT [WEB01], auquel le laboratoire participe, des sections efficaces d'interactions dans la matière biologique sont actuellement en cours d'acquisition dans les biomolécules de l'ADN en phase vapeur, et ces données seront ensuite intégrées au code Geant4-DNA.

Bien que les codes cités dans le tableau II-2 soient adaptés au calcul de la structure de la trace au niveau nanométrique et au calcul des dommages biologiques précoces radio-induits, ils sont le plus souvent difficiles d'accès car ils demeurent la propriété de leurs développeurs. C'est pourquoi, dans le cadre de ce travail nous avons choisi d'utiliser un code ouvert et facile d'accès : le code de calcul Monte Carlo Geant4 et plus particulièrement son extension aux faibles énergies Geant4-DNA, permettant la simulation des dépôts d'énergie à l'échelle nanométrique.

II.2 Le code de calcul Geant4

II.2.1 Généralités [AGO03, ALL06]

Geant4 est une librairie « open source » codée en C++ offrant les outils nécessaires à la réalisation de simulations de transport de particules par la méthode Monte Carlo. Le développement de ce code est le résultat d'une collaboration internationale, regroupant des physiciens et des informaticiens, entre le KEK (High energy accelerators research organisation, Japon) et le CERN (Centre Européen de Recherche Nucléaire) démarrée en 1993 pour améliorer la précédente version

de ce code, Geant3, codé en FORTRAN. En effet, le développement de la version 4 de Geant a été encouragé par les avancées des nouvelles technologies de programmation. Ce projet a abouti à la création d'un nouveau code, optimisé et amélioré par rapport à la version précédente, Geant4, basé sur la programmation orientée objet C++. La première version de Geant4 a été publiée en 1998 et depuis, le code est toujours en développement de manière à améliorer les processus existants ou apporter de nouvelles fonctionnalités. L'atout principal de ce code est donc sa structure qui permet l'implémentation de nouvelles classes ou la modification de classes existantes par l'utilisateur.

L'organisation de la collaboration Geant4 est structurée de manière à ce que chaque communauté d'experts travaillant dans un certain domaine d'activité puisse réaliser les implémentations nécessaires à ses calculs. L'ensemble de ces évolutions est contrôlée par un comité technique de pilotage. Un membre du comité dirige chaque groupe de travail.

Ces groupes de travail sont également chargés de la validation et de la qualification des ces implémentations ainsi que de la rédaction de la documentation associée. Ces groupes de travail sont au nombre de seize :

- « *Novice and Extended examples* » : exemples d'applications permettant de prendre en main le code Geant4 ;
- « *Advanced examples* » : exemples d'applications réalistes dans différents domaines d'activité (radioprotection, microdosimétrie, hadronthérapie...) ;
- « *Hadronics Physics* » : processus et modèles pour la simulation en physique hadronique ;
- « *Electromagnetic Physics* » : processus et modèles physiques électromagnétiques jusqu'à haute énergie (TeV) ;
- « *Low Energy Electromagnetic Physics* » : processus et modèles physiques électromagnétiques alternatifs à basse énergie. Ce groupe de travail intègre la collaboration G4-DNA (pilotee par S. Incerti) ;
- « *Geometry and Transport* » : définition des modèles géométriques (forme, technique de positionnement...) et du transport des particules dans ces géométries ;
- « *Particles and Track* » : gestion des particules et de leurs traces associées ;
- « *Processes and Materials* » : description des processus et des matériaux ainsi que des techniques de réduction de variance pour les processus physiques ;
- « *Run, Event and Detector Responses* » : génération et déroulement des événements ainsi que de la collection des données ;
- « *Tracking* » : suivi des particules ;

- « *Persistency* » : mécanismes de portabilité des objets ;
- « *Visualisation* » : visualisation des géométries, des trajectoires et des événements. Plusieurs visualisateurs sont disponibles tel que OPENGGL ;
- « *Documentation Management* » : développement et mise à jour de la documentation concernant le code, son utilisation et les modèles physiques ;
- « *Software Management* » : compilation et déploiement du code, outils en ligne ;
- « *Testing and Quality Assurance* » : tests et compatibilité entre les différentes versions de Geant4 ;
- « *User and Category Interfaces* » : interfaces des catégories logicielles de Geant4 et celles pour les utilisateurs.

II.2.2 Architecture globale

Géant4 est spécialisé dans le transport des particules et des photons dans la matière et il est actuellement l'outil qui permet de couvrir la plus large gamme de processus physiques en incluant les processus hadroniques, les processus électromagnétiques et les processus optiques.

La librairie Geant4 offre la possibilité d'utiliser les classes déjà codées donnant les définitions des particules, des ions et des matériaux et ceci dans une gamme d'énergie allant de quelques électronvolts au Téra-électronvolt. L'ensemble des particules générées, primaires ou secondaires, sont suivies de leur création jusqu'à leur disparition et le calcul des trajectoires des particules secondaires s'effectue de la même manière que pour les particules primaires. Au cours de la simulation, l'utilisateur peut avoir accès à différentes variables telles que l'énergie déposée dans un volume cible, la position des particules ou leur énergie cinétique par exemple.

La figure II-2 (obtenue de [GEA11]) montre la structure générale de Geant4. La librairie est constituée de plusieurs catégories de classes, qui constituent les éléments nécessaires à la modélisation. Les classes positionnées vers le bas héritent des classes placées au dessus et correspondent aux catégories fondamentales de l'outil.

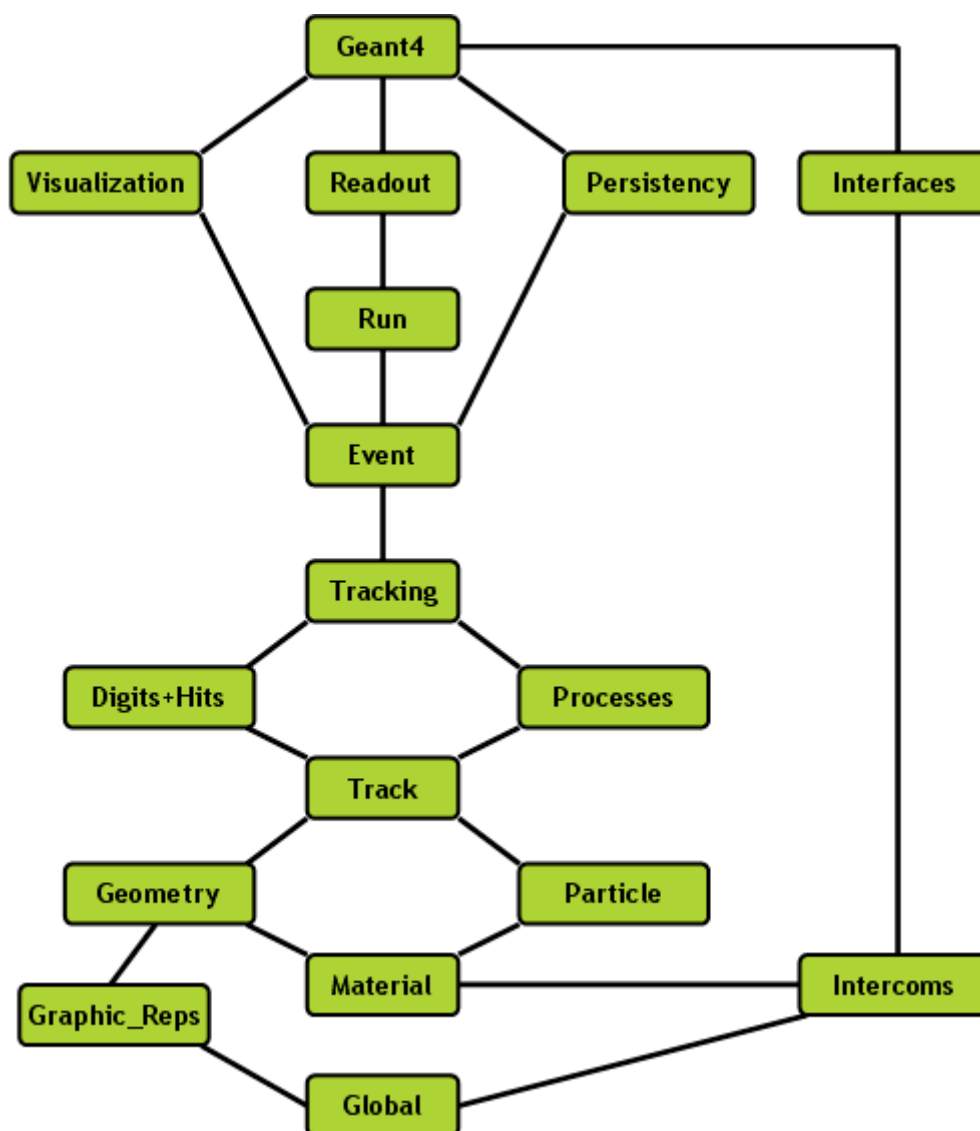


Figure II-2 : Structure générale du code Geant4 [GEA11].

Les informations relatives à l'ensemble des classes définies dans Geant4 peuvent être trouvées au sein des guides d'utilisation [GEA11]. Néanmoins, quelques classes ont un intérêt particulier dans le cadre de notre travail : track, tracking, geometry, processes, event et run. Celles-ci seront définies dans la suite de la section.

Une simulation particulière dans Geant4 est définie à partir d'un minimum de trois fichiers décrivant la géométrie du problème, la source et les processus physiques choisis pour simuler les interactions des différentes particules transportées :

- 1^{er} fichier : contenant la définition de la géométrie ainsi que la composition des matériaux utilisés dans celle-ci (DetectorConstruction). La catégorie géométrie de Geant4 sera détaillée dans le chapitre suivant ainsi que la géométrie que nous avons implémentée ;

- 2^{ème} fichier : définissant la source de la particule utilisée (ponctuelle, géométrie complexe...). Il est également nécessaire de définir sa position, sa nature, la direction des particules générées et leurs énergies (PrimaryGeneratorAction) ;
- 3^{ème} fichier : contenant l'appel à tous les processus physiques de toutes les particules transportées pendant la modélisation (PhysicList).

En plus de ces trois fichiers principaux, il est possible d'utiliser d'autres fichiers notamment pour obtenir des informations sur les résultats de la simulation, par exemple sur l'énergie déposée, la position des particules, les volumes traversés par la particule primaire et les particules secondaires générées ou encore le parcours ou la portée des particules. Dans le cadre de ce travail, l'information résultante des simulations a été acquise après chaque interaction individuelle (« pas » ou « step ») des particules, ainsi, elle a été obtenue par demande dans le fichier « SteppingAction ». D'autres informations regroupant la réponse intégrée au niveau de la trace complète d'une particule ou d'une fluence totale simulée peuvent être obtenues à partir des fichiers « TrackingAction », « EventAction » ou « RunAction ».

II.2.3 Le transport dans Geant4

Bien qu'une des catégories de Geant4 porte le nom de « *Transportation* », les particules ne sont pas transportées dans celle-ci. En effet, cette classe sert d'interface entre les classes placées hiérarchiquement au dessus et en dessous (figure II-2) et notamment entre les catégories « Event », « Track » et « Step » concernant respectivement les événements, la trajectoire et le transport des particules.

La catégorie « *Track* » contient toutes les informations concernant les trajectoires des particules et les informations sur le pas entre deux interactions successives d'une particule, un « step ». Au début de chaque « step », un tirage aléatoire pondéré par les sections efficaces des différents processus possibles permet de choisir le processus qui se produira pendant le « step ». Pour illustrer ceci, sur la figure II-3 nous avons reporté la trajectoire d'une particule. Le pas entre deux interactions peut être limité par le libre parcours moyen de l'interaction λ ou par un changement de volume. Si des particules secondaires sont générées, elles seront stockées et traitées de la même manière à partir de leur point de création. Une trace représente ainsi l'ensemble des informations sur les caractéristiques du transport d'une particule à un instant donné (comme une « photographie instantanée »).

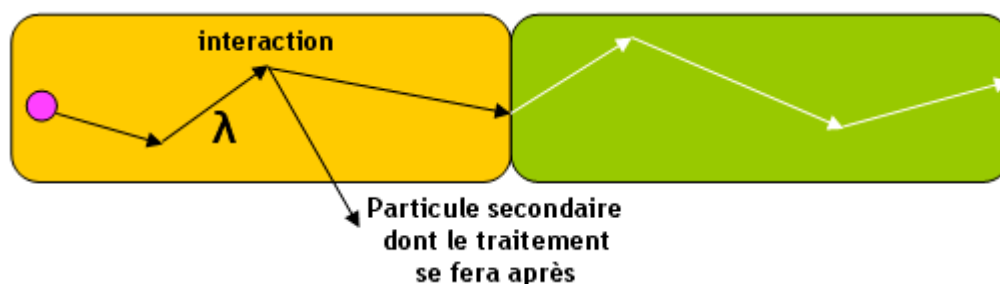


Figure II-3 : Trajectoire d'une particule.

Seul G4VProcess permet de changer les informations de la classe « Track ». G4VProcess est une classe de base de tous les processus qui contient au moins deux informations : la description de quand doit se produire l'interaction grâce à la méthode GPIL (GetPhysicalInteractionLength) et la description de l'interaction elle-même via la méthode DoIt.

La méthode GPIL est utilisée en début de chaque « step ». Elle permet de calculer la longueur du pas depuis le point courant vers le point suivant. Pour cela, la probabilité d'interaction est calculée à partir de la section efficace d'interaction du processus correspondant.

La méthode DoIt est appelée à la fin de la méthode GPIL de manière à réaliser l'interaction en modifiant, si nécessaire, l'énergie de la particule incidente, sa direction ou encore la génération de particules secondaires. C'est donc dans cette fonction que sont pris en compte tous ces changements. Ces changements peuvent être réalisés grâce à « G4VParticleChange » qui permet de stocker les informations sur l'état final du track et qui est le seul objet dont les informations sont mises à jour par les processus physiques, il est donc responsable de la mise à jour du step.

La catégorie « *Tracking* » quant à elle regroupe les classes utilisées par l'utilisateur pour accéder aux informations des objets « track ».

Il est également important de citer deux autres catégories : la catégorie « event » et la catégorie « run ». La catégorie « event » gère les « événements » sous forme de « tracks ». Enfin le « run » permet de gérer les événements pour une configuration de simulation donnée. Plus spécifiquement, il correspond à une collection d'« event » partageant la même géométrie et la même physique, il représente une boucle d'événements. Lorsque le « run » démarre, la géométrie est créée et les sections efficaces pour les différents processus définis dans la PhysicList sont calculées en fonction du matériau composant la géométrie.

II.2.4 Bref aperçu de la physique dans Geant4

Les processus physiques de Geant4 contiennent la probabilité des différents types d'interaction se produisant le long de la trajectoire d'une particule. Pour les décrire, des modèles basés sur des calculs théoriques, des formules semi-empiriques ou encore des interpolations de bases de données sont utilisés.

Au sein de Geant4, il existe une grande variété de processus physiques qui sont répartis en sept grandes catégories : Electromagnetic (sous catégories « standard », « basse énergie » et photons « optiques »), Hadronic, Decay, Photolepton, Optical, Parametrization, Transportation. Parmi ces catégories nous pouvons en distinguer deux plus importantes dans le cadre de ce travail de thèse qui sont *Electromagnetic* et *Transportation*. En effet, dans ce travail, c'est la catégorie concernant les processus électromagnétiques qui nous intéresse et plus particulièrement la sous-catégorie « basse énergie », dans laquelle il est possible de négliger les interactions nucléaires (énergie maximale de 100 MeV pour les protons et de 400 MeV pour les alphas primaires pour les processus Geant4-DNA à l'intérieur des processus basse énergie). Le processus Transportation, quant à lui, permet de gérer le transport des particules dans les volumes géométriques en présence ou non d'un champ électromagnétique. Ce processus est également responsable de la détermination de la limite géométrique d'une étape de transport en calculant la distance jusqu'à la prochaine frontière géométrique et identifie ainsi le prochain volume rencontré.

Comme mentionné précédemment, chacun des processus physiques est décrit par une classe dérivant de « G4VProcess », la figure II-4 montre comment tous les processus héritent de celle-ci.

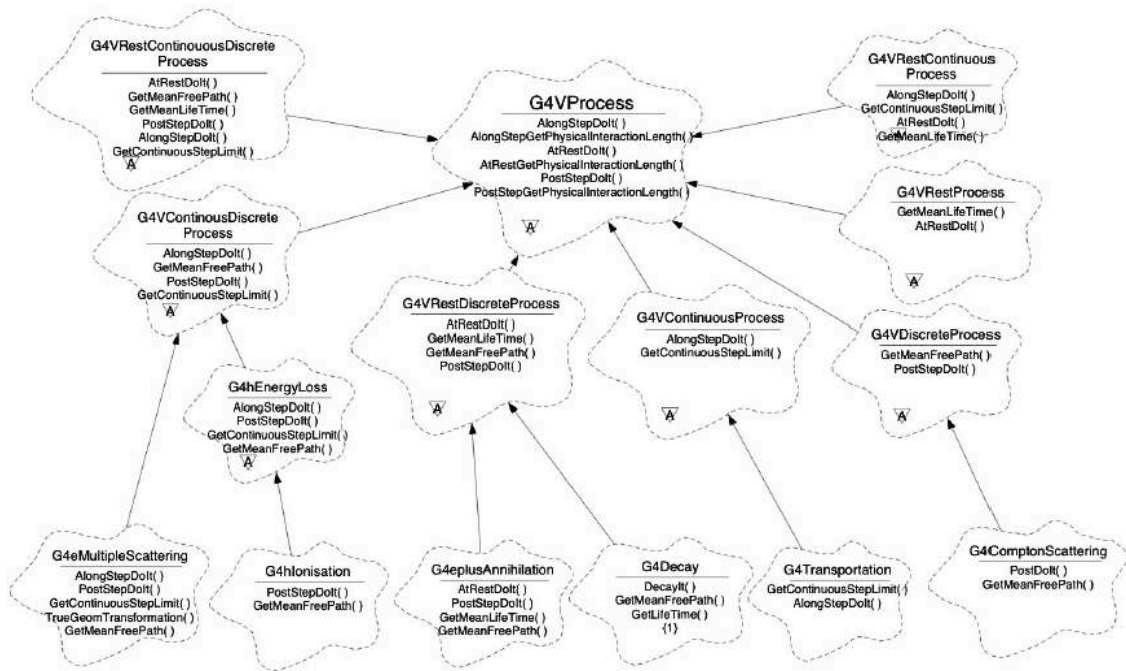


Figure II-4 : Processus physiques dérivant de la classe G4VProcess [GEA11].

Prenons par exemple la classe « G4ComptonScattering » qui décrit l'effet Compton, cette classe hérite de « G4VDiscreteProcess » parce que l'effet Compton est considéré parmi les processus de type « discret ». La classe « G4VDiscreteProcess » hérite elle-même de la classe de base « G4VProcess ». Il est également important de noter que tous les processus Geant4-DNA sont des processus discrets.

II.3 L' extension aux faibles énergies : Geant4-DNA

Comme expliqué précédemment, l'estimation des énergies déposées au niveau intracellulaire implique de prendre en compte tous les processus jusqu'à thermalisation des électrons émis de manière explicite. La version standard de Geant4 ne permettait pas de décrire ce type d'interactions. L'idée a donc été d'étendre la version standard de Geant4 au calcul des interactions au niveau nanométrique en incluant de nouveaux processus physiques. Dans ce cadre, le projet Geant4-DNA, initié par P. Nieminen de l'Agence Européenne Aérospatiale en 2001 [CHA06, CHA07, INC10] en préparation à de futures missions spatiales de longue durée, a comme objectif principal de pouvoir simuler les effets biologiques précoces de différents types de particules à l'échelle cellulaire et subcellulaire. Cette simulation doit inclure les effets directs et indirects des radiations induits dans la molécule d'ADN ce qui implique le développement d'outils pour décrire les phases physico-chimique et chimique qui suivent l'étape physique dans le temps après le passage du rayonnement, ainsi que l'implémentation d'un modèle géométrique de la molécule cible adapté. Dans ce projet, trois étapes principales pour son développement sont proposées :

- l'étape physique : cette étape consiste à implémenter dans Geant4 des processus et des modèles physiques nécessaires à la simulation « pas à pas » des interactions des rayonnements dans la matière biologique. Les premiers processus et sections efficaces correspondantes ont été introduits à partir de 2007 dans Geant4 [CHA07, FRA07]. Depuis l'implémentation de ces processus, le code est continuellement amélioré par l'ajout de nouveaux modèles physiques qui permettent de compléter les capacités du code de manière à pouvoir effectuer des simulations de plus en plus complexes et précises ;
- l'étape physico-chimique / chimique : consistant à modéliser la production, la diffusion et les interactions des différentes espèces moléculaires et radicalaires créées lors de la radiolyse de l'eau. Ce travail a fait l'objet d'une thèse soutenue par M. Karamitros en novembre 2012 [KAR11, KAR12] ;
- l'étape biologique : cette étape consiste à modéliser les dommages à l'ADN tels que les cassures de brins ou les dommages de bases directs et indirects pour ensuite essayer de les relier aux observables macroscopiques tels que la mort cellulaire. Ainsi, l'implémentation

d'une géométrie détaillée de l'ADN comme cible pour les simulations est nécessaire à cette étape.

Concernant la simulation de l'étape physique, les processus déjà implémentés peuvent également être améliorés grâce à l'acquisition de nouvelles données expérimentales et l'ajustement des sections efficaces déjà implémentées [FRA11a, FRA11b, VIL10, CHA09]. La publication de S. Incerti et al. [INC10] réalise une revue des différents processus et leurs sections efficaces d'interactions correspondantes implémentées dans Geant4-DNA ainsi que la validation de ceux-ci pour les simulations. Ces processus sont appelés « G4DNAom_processus.cc » et sont placés au sein des processus électromagnétiques de Geant4.

Les sections efficaces inélastiques d'interaction de ces nouveaux processus introduits dans Geant4 ont été calculées pour la plupart à partir de la première approximation de Born [LAN70, BET33] et de quelques modèles semi-empiriques. Le domaine de validité de la première approximation de Born dépend principalement de la nature et de l'énergie de la particule incidente. En général, cette théorie est valable pour les particules ayant des vitesses très grandes par rapport à celles des électrons orbitaux de la molécule cible. Les sections efficaces implémentées dans Geant4-DNA suivent l'approche décrite par Dingfelder et al. [DIN00] pour résoudre la première approximation de Born à partir des données de Heller [HEL74] dans le cas des électrons. Lorsque la première approximation de Born n'est plus valable, des corrections lui sont appliquées ou alors des modèles semi-empiriques sont utilisés. Nous reviendrons en détail sur les sections efficaces introduites dans Geant4-DNA dans les sections qui suivent.

Grâce à ces implémentations, il est maintenant possible de transporter des protons et des noyaux d'hydrogène jusqu'à 100 MeV, des alphas jusqu'à 400 MeV, des ions légers (Carbone, Azote, Oxygène et Fer) de 0,5 MeV/u à 10^6 MeV/u et des électrons de 1 MeV jusqu'à leur thermalisation et tout ceci en incluant les différents transferts de charges pour les protons et les alphas dans l'eau liquide. Pour toutes ces particules les interactions inélastiques ont été prises en compte, suivies de la relaxation de la molécule cible par fluorescence ou effet Auger le cas échéant (uniquement les ionisations pour les ions légers $Z > 2$). En plus de celles-ci, pour les électrons, les collisions élastiques et les excitations vibrationnelles du milieu sont également disponibles.

Concernant la simulation des photons, il n'a pas été nécessaire d'introduire de nouvelles sections efficaces d'interactions car des tables concernant l'effet photoélectrique, l'effet Compton, la création de paires et la diffusion Rayleigh étaient déjà disponibles dans Geant4. En effet, la catégorie « Low Energy » de Geant4 contient deux modèles alternatifs, « PENELOPE » et « Livermore », permettant de simuler les interactions des photons. Les modèles « PENELOPE » permettent de simuler ces interactions de 100 eV à 1 GeV et les modèles « Livermore » sont quant à eux recommandés jusqu'à 250 eV. Dans le cadre du projet ROSIRIS, ce sont les modèles de Livermore qui sont utilisés pour calculer ces sections efficaces [GEA11] car ils permettent de

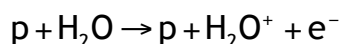
descendre bas en énergie de création des électrons, ces électrons sont ensuite suivis en utilisant les processus DNA. Ces modèles sont calculés à partir des données de la librairie EPDL97 (Evaluated Photons Data Library) du Lawrence Livermore National Laboratory [CIR10].

II.3.1 Description des interactions des particules chargées lourdes : proton, hydrogène et alpha

Une particule chargée lourde qui pénètre dans un milieu va interagir avec les atomes de celui-ci en déposant de l'énergie et par conséquent va se ralentir. Aux énergies utilisées en radiothérapie, la perte d'énergie de ces particules se fait par interaction coulombienne avec les électrons des atomes composant la cible. Ainsi, il est possible de négliger les collisions élastiques du fait du faible changement de direction dans les interactions coulombiennes. Trois processus d'interaction peuvent être distingués : l'ionisation, l'excitation et la capture électronique.

L'ionisation :

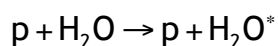
Le processus d'ionisation se produit lorsque le transfert d'énergie est suffisamment important pour pouvoir arracher un électron à l'atome auquel il était lié ($E > E_{\text{liaison}}$). Par exemple, pour un proton, nous obtenons :



Lorsque l'ionisation s'est produite, l'électron éjecté laisse une place vacante qui peut être comblée par un électron d'une couche supérieure. Au cours de ce réarrangement, un photon de fluorescence est émis. En concurrence avec ce phénomène, un électron d'une couche supérieure peut être éjecté, c'est un électron Auger.

L'excitation :

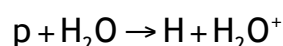
Ce processus correspond au changement d'état quantique de l'électron. Le rayonnement incident permet de faire passer l'électron d'un état d'énergie E_0 à un état d'énergie E_1 moins lié sans pour autant pouvoir arracher ou ioniser l'atome. C'est le phénomène d'excitation électronique et pour un proton on a :



Si cette énergie transférée est encore plus faible, elle se communique à toute la molécule sous forme d'énergie de vibration ou de rotation. Ces états excités ne sont que transitoires et l'excitation se dissipe (émission d'un photon de fluorescence). Bien que l'énergie transmise soit très faible, l'excitation moléculaire peut être suffisante pour rompre des liaisons fragiles de cette molécule.

La capture électronique :

Ce processus correspond à la capture d'un électron de la molécule cible par la particule incidente, ceci conduisant à un changement de charge de la particule incidente :



II.3.1.1 Sections efficaces inélastiques des protons

Dans cette section, les modèles utilisés afin de calculer les sections efficaces des collisions inélastiques des protons dans l'eau liquide sont présentés. Ces modèles sont différents en fonction de l'énergie des protons et deux catégories de protons peuvent être distinguées : les protons rapides et les protons lents.

Un proton est considéré comme « rapide » lorsque sa vitesse est supérieure à celle des électrons orbitaux de la cible traversée dans leur état excité ou ionisé (> 500 keV). Dans ce cas, c'est la première approximation de Born qui est utilisée pour calculer les sections efficaces d'interactions d'ionisation et d'excitation [BET33, LAN70].

Un proton est considéré comme « lent » lorsque sa vitesse est comparable à celle des électrons orbitaux de la cible (< 500 keV). Dans ces conditions, la première approximation de Born n'est plus applicable et il est donc nécessaire d'utiliser des modèles semi-empiriques pour calculer les sections efficaces d'interactions.

II.3.1.1.1 Ionisation

Cas des protons rapides :

Dans la théorie de Born, la section efficace doublement différentielle, par rapport à l'énergie et au moment transféré lors de la collision, est calculée à partir de l'équation (II.4).

A partir de cette formule il est possible de remonter à la section efficace macroscopique en intégrant sur K et E.

$$\frac{d^2 \Sigma(T,E,K)}{dE.dK} = \frac{1}{\pi \alpha_0 T K} \text{Im} \left\{ \frac{-1}{\varepsilon(E,K)} \right\} \quad (\text{II.4})$$

E : énergie transférée ;

K : moment transféré ;

α_0 : rayon de Bohr ;

avec $T = \frac{m}{M} \tau$ l'énergie cinétique d'un électron ayant la même vitesse que le proton (m est la masse de l'électron et M celle du proton) ;

et $\text{Im} \left\{ \frac{-1}{\varepsilon(E,K)} \right\}$ la fonction de perte d'énergie (ELF) avec $\varepsilon(E,K)$ la fonction de réponse diélectrique du milieu.

Le terme le plus important de l'équation II.4 est le terme correspondant à la fonction de perte d'énergie (ELF), également appelée surface de Bethe, caractérisant la cible. Pour le déterminer il est nécessaire de définir la fonction diélectrique $\varepsilon(E,K)$. Cette fonction a été largement étudiée pour les trois phases de la molécule d'eau par de nombreux auteurs et notamment D. Emfietzoglou. Dans ce cas précis, cette fonction est calculée à partir du modèle semi empirique de cet auteur [EMF02a].

Comme signalé précédemment (section II.1.3), les seules données expérimentales disponibles pour calculer la fonction de perte d'énergie de la molécule d'eau à l'état liquide sont celles de Heller et al. [HEL74] et d'Hayashi et al. [HAY98]. La fonction de réponse diélectrique a alors été calculée pour un moment K = 0 (cas de la limite optique) en suivant le modèle de Drude :

$$\varepsilon(E,0) = 1 + E_p^2 \sum_j f_j \frac{1}{E_j^2 - E^2 - i\gamma_j E} \quad (\text{II.5})$$

Avec f_j , E_j et γ_j des paramètres dépendant de la nature du matériau pour les états j de transferts d'énergie considérés. f_j est la fraction d'électrons ayant pour énergie caractéristique de l'oscillateur E_j et pour coefficient d'amortissement γ_j . Les valeurs de ces différents paramètres peuvent être trouvées dans les publications de Dingfelder et d'Emfietzoglou [DIN98, EMF03a]. E_p est l'énergie nominale du plasmon du système, le plasmon représentant un quantum d'oscillation de la densité de charge (plasma) du matériau et est définie par :

$$E_p = \hbar \left(\frac{4 \pi N Z e^2}{m} \right)^{-1/2} = 28.816 \left(\rho \frac{Z}{A} \right)^{-1/2} \quad (\text{II.6})$$

avec ρ , A et Z respectivement la masse volumique, la masse atomique et le numéro atomique du matériau, m la masse de l'électron et N la densité moléculaire. Dans le cas de l'eau liquide E_p est égale à 21,46 eV [DIN98].

Dans le cas plus général où $K > 0$, la fonction de réponse diélectrique est calculée à partir du modèle de Drude étendu [DIN98, EMF03a, EMF03b] qui consiste à remplacer les paramètres f_j , E_j et γ_j par des termes dépendant de K . Les détails des calculs pour la fonction de perte d'énergie pour des moments K positif sont donnés dans les publications d'Emfietzoglou [EMF03a, EMF05a, EMF05b, EMF06a, EMF06b, EMF07].

Le modèle développé pour le calcul de la surface de Bethe considère cinq états d'ionisation et cinq états d'excitation pour l'eau liquide. Deux ensembles de paramètres ont été adaptés par Emfietzoglou en utilisant respectivement les données de Heller [HEL74] et les données d'Hayashi et al. [HAY98]. Le dernier ensemble a quant à lui été adapté par Dingfelder [DIN98] en se basant sur les données de Heller [HEL74]. Ainsi, trois jeux de sections efficaces d'ionisation et d'excitation couvrant la même gamme en énergie pour les protons rapides ont été définis.

Bien que deux de ces jeux de données utilisent les données expérimentales de Heller [HEL74], des différences sont observées au niveau des sections efficaces d'interaction des sous-couches. Néanmoins, les sections efficaces totales et les pouvoir d'arrêt sont très semblables.

Finalement, dans Geant4-DNA, les sections efficaces d'interaction utilisées suivent l'approche de Dingfelder [DIN98] basé sur les données de Heller [HEL74]. Les énergies (E_j) relatives aux différentes sous-couches définies pour l'ionisation et l'excitation de la molécule d'eau ont été reportées dans les tableaux II-3 et II-4.

Tableau II-3 : Energie d'ionisation des différentes couches de la molécule d'eau

Couches d'ionisation de la molécule d'eau	Energie d'ionisation (eV)
1b ₁	10,79
3a ₁	13,39
1b ₂	16,05
2a ₁	32,3
1a ₁	539

Tableau II-4 : Energie d'excitation des différentes couches de la molécule d'eau.

Couches d'excitation de la molécule d'eau	Energie d'excitation (eV)
A ¹ B ₁	8,22
B ¹ A ₁	10
Ryd A+B	11,24
Ryd C+D	12,61
Bande diffuse	13,77

Il est important de noter que, pour l'ionisation de la molécule d'eau, on considère 4 couches de valence pour lesquelles on utilise la théorie de Born. La dernière couche correspond à l'ionisation de la couche K de l'oxygène. Cette dernière possède une énergie de liaison très grande, induisant des transferts d'énergie très importants, il sera alors possible d'utiliser la méthode d'approximation binaire (approximation qui considère une collision entre deux particules sans tenir compte de l'environnement et des autres particules à proximité). La section efficace différentielle est obtenue en utilisant la formule proposée dans le rapport 55 de l'ICRU [ICRU55].

Cas des protons lents :

Lorsque la vitesse du projectile devient comparable à celle des électrons de la cible, c'est-à-dire pour les protons lents, la première approximation de Born devient inapplicable. Ainsi, pour le processus d'ionisation des protons lents c'est le modèle semi-empirique de Rudd [RUD85a, RUD92, DIN00] qui est utilisé et les sections efficaces différentielles sont calculées à partir de l'équation suivante :

$$\frac{d\sigma}{dE} = \sum_j G_j \frac{d\sigma^j}{dW_j} \quad (\text{II.7})$$

$W_j = E - I_j$: énergie cinétique de l'électron secondaire produit par l'ionisation de la couche j ;

I_j : énergie d'ionisation de la couche j de l'eau liquide ;

G_j : facteur caractérisant le nombre d'occupation de chacune des orbitales (calculer théoriquement).

Dans ce modèle, la distribution en énergie des électrons secondaires $d\sigma^j/dw_j$ pour une couche j est donnée par la formule (II.8) où les fonctions $F_1(v)$ et $F_2(v)$ représentent les contributions à faible et haute énergies :

$$\frac{d\sigma^j}{dw_j} = \frac{S}{B_j} \frac{F_1(v) + wF_2(v)}{(1+w)^3 [1 + \exp\{\alpha(w - w_c)/v\}]} \quad (\text{II.8})$$

Avec :

$$S = 4.\pi.a_0^2 N_j \left(\frac{R_y}{B_j} \right)^2 \quad (\text{II.9})$$

$$w = \frac{W}{B_j} \quad (\text{II.10})$$

$$w_c = 4v^2 - 2v - \frac{R_y}{4B_j} \quad (\text{II.11})$$

$$v = \frac{m_e}{M} \tau \quad (\text{II.12})$$

Où :

a_0 : rayon de Bohr ;

B_j : énergie de liaison de la couche j ;

N_j : nombre d'électrons sur la couche j ;

m_e : masse de l'électron ;

M : masse du proton ;

τ : énergie cinétique du proton ;

R_y : constante de Rydberg = 13,6 eV.

Dans le modèle de Rudd [RUD85a], les paramètres $F_1(v)$, $F_2(v)$ et α correspondent à des paramètres ajustables pour chaque spectre d'électrons secondaires pour une énergie de la particule primaire donnée. Pour les calculs des sections efficaces dans Geant4-DNA, ce sont les paramètres qui ont été ajustés par Dingfelder [DIN00] qui sont utilisés. L'ajustement de ces paramètres a été réalisé de manière à reproduire le pouvoir d'arrêt recommandé par le rapport 49 de l'ICRU [ICRU49] pour les protons dans l'eau liquide. Suite à ces ajustements, la quantité α se révèle être indépendante de l'énergie primaire et est considérée comme une constante pour l'eau.

La section efficace totale d'ionisation est ensuite obtenue en intégrant la section efficace différentielle entre l'énergie de transfert minimale qui est zéro et l'énergie de transfert maximale :

$$\sigma = \int_0^{E_{\max}} \frac{d\sigma}{dE} dE \quad (\text{II.13})$$

Sachant que l'énergie perdue par le proton est communiquée aux électrons du milieu, donc aux électrons de la molécule d'eau, on a :

$$E_{\max} = \frac{4m_e}{M} \tau \quad (\text{II.14})$$

La figure II-5, extraite de la publication sur la validation des modèles physiques implémentées dans Geant4-DNA [INC10], reporte l'évolution des sections efficaces d'ionisation (ligne continue) en fonction de l'énergie du proton initial.

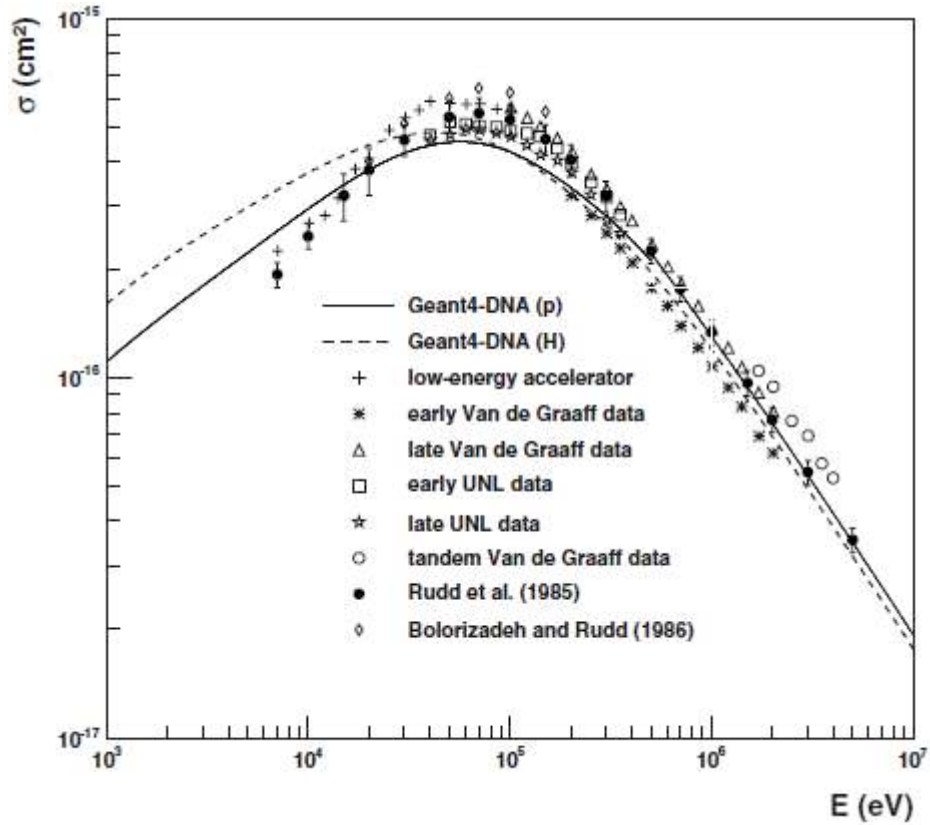


Figure II-5 : Sections efficaces totales d'ionisation des protons dans l'eau liquide obtenues en utilisant le modèle de Rudd ($E < 500$ keV) et la première approximation de Born ($E > 500$ keV) [INC10].

Nous pouvons observer un bon accord global entre les données expérimentales disponibles dans la vapeur d'eau [RUD85b, BOL86a, BOL86b] et celles implémentées dans Geant4-DNA excepté dans la région centrale où une dispersion plus importante est observée. En effet, dans cette région, la section efficace pour les protons dans l'eau liquide est plus petite que celle dans la vapeur d'eau. Dingfelder et al. [DIN00] ont expliqué ce décalage comme étant dû aux effets de phase de l'eau. Néanmoins, à la vue de la dispersion des données expérimentales, il est difficile de tirer des conclusions sur l'effet de la phase de l'eau.

II.3.1.1.2 Excitation

Cas des protons rapides (> 500keV):

Comme pour le processus d'ionisation, pour les protons rapides, c'est également la première approximation de Born qui est utilisée pour le calcul des sections efficaces d'interaction dans l'eau liquide. Comme nous l'avons vu dans la section précédente, trois jeux de sections efficaces d'interaction pour les cinq sous couches de la molécule d'eau ont été déterminés, dont deux utilisent les données de Heller [HEL74] (Emfietzoglou utilisant les données de Heller et Dingfelder utilisant les données de Heller) et une celles d'Hayashi [HAY98]. Néanmoins pour ce processus, des différences plus importantes que dans le cas de l'ionisation sont rencontrées entre les sections efficaces des différentes sous couches déterminées par ces deux approches. Malheureusement, peu de données expérimentales sont disponibles pour pouvoir les comparer et les évaluer. Néanmoins, comme le processus d'excitation ne contribue que peu à la perte d'énergie des protons (~5 %) et que le pouvoir d'arrêt total est en bon accord avec les valeurs données par le rapport 49 de l'ICRU [ICRU49], l'incertitude sur ces valeurs est considérée comme suffisante pour les simulations Monte Carlo [DIN00]. Comme pour l'ionisation, dans Geant4-DNA, les sections efficaces d'interaction utilisées pour l'excitation suivent l'approche de Dingfelder [DIN98] basée sur les données de Heller [HEL74].

Cas des protons lents (< 500 keV):

Concernant le processus d'excitation pour les protons lents, c'est le modèle semi-empirique de Miller & Green qui est utilisé [MIL73]. La section efficace totale d'excitation d'un proton pour un état j est déduite à partir de celle des électrons selon l'approximation suivante :

$$\sigma_{\text{exc},j}^p(\tau) = \sigma_{\text{exc}}^{e-}(T) = \frac{\sigma_0 (Za)^\Omega (\tau - E_j)^\nu}{J^{\Omega+\nu} + \tau^{\Omega+\nu}} \quad (\text{II.15})$$

avec :

σ_0 : constante égale à 10^{-20} m^2 ;

Z : nombre d'électrons de la molécule cible ;

E_j : énergie d'excitation de la couche;

ν et Ω : paramètres sans dimensions ;

J et a : paramètres ayant la dimension d'une énergie (eV).

Ω et a sont des paramètres liés à la limite à haute énergie et sont déduits à partir des sections efficaces de protons et des électrons dans la théorie de Born. Les paramètres J et v décrivent le comportement à basse énergie. Plus de détails sur ces valeurs sont disponibles dans la publication de Dingfelder et al. [DIN00].

II.3.1.2 Transfert de charge et stripping de l'hydrogène

Lorsque l'énergie des protons devient faible, le transfert de charge n'est plus négligeable et par conséquent doit être pris en compte. Le transfert de charge se produit lorsqu'un électron est capté par le proton incident ce qui conduit à la formation d'un hydrogène qui peut à son tour ioniser le milieu ou subir un processus de « stripping » perdant ainsi son électron orbital et retournant à son état d'ion. Dans ce cas l'électron est éjecté dans la même direction que le projectile et avec la même vitesse.

Pour le calcul de la probabilité de capture de l'électron par le proton incident, c'est le modèle de Dingfelder qui est utilisé [DIN00]. Pour le stripping de l'hydrogène, c'est le modèle de Miller & Green qui est utilisé [MIL73].

II.3.1.3 Ionisation et excitation de l'hydrogène

L'atome d'hydrogène (formé par capture électronique par un proton incident) peut également ioniser le milieu cible. Pour prendre en compte ce processus dans la modélisation, ce sont les mêmes sections efficaces que pour les protons qui sont utilisées [RUD85a, RUD92, DIN00]. Néanmoins, ces sections efficaces ont été modifiées par un facteur de manière à prendre en compte l'effet lié à la projection de l'électron de l'hydrogène pendant la collision.

Bien que le processus d'excitation soit négligeable pour l'hydrogène, les sections efficaces d'interactions sont définies à partir du modèle de Miller & Green [MIL73].

II.3.1.4 Sections efficaces inélastiques pour les He, He⁺ et He²⁺

Concernant ces particules, les phénomènes physiques intéressants lors du calcul des traces sont l'ionisation, l'excitation et les transferts de charge.

II.3.1.4.1 Ionisation et excitation

Pour l'ionisation et l'excitation, ce sont les mêmes modèles que ceux utilisés pour les protons lents qui sont utilisés. Le modèle de Miller & Green est utilisé pour les excitations et le modèle de Rudd est utilisé pour l'ionisation. La figure II-6 reporte l'évolution des sections efficaces d'excitation et d'ionisation pour les trois états de charge des alphas en fonction de l'énergie incidente de ceux-ci.

Concernant le processus d'ionisation, les résultats obtenus avec Geant4-DNA ont été comparés à des données expérimentales obtenues dans la vapeur d'eau. Ces données expérimentales sont référencées dans la publication de Dingfelder [DIN05a]. Bien que ces résultats aient la même allure, une différence significative est observée entre les jeux de données en particulier pour les énergies inférieures à 100 keV.

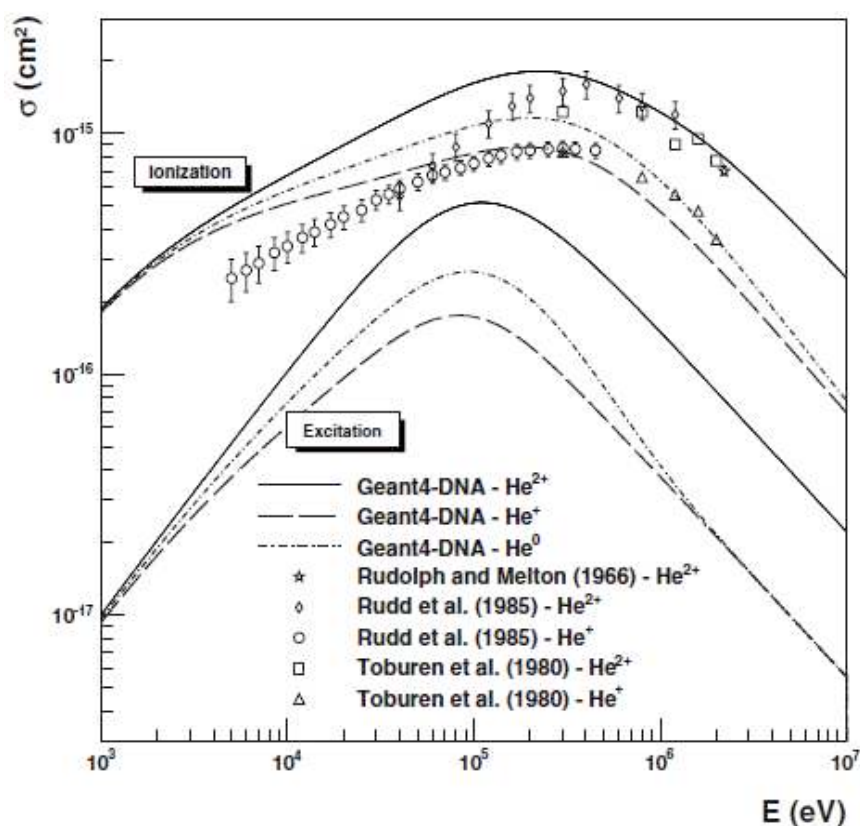


Figure II-6 : Sections efficaces totales d'ionisation et d'excitation des alphas dans l'eau liquide pour He^{2+} (ligne continue), He^+ (ligne en tirets) et He^0 (ligne en tirets et points) [INC10].

II.3.1.4.2 Transfert de charge

Pour le calcul des sections efficaces d'interaction pour les transferts de charge, comme dans le cas des protons, c'est l'approche de Dingfelder qui est utilisée [DIN02, DIN05b] :

$$\frac{d\sigma_{\alpha}}{dEdK}(v) = Z_{\text{eff}}^2(E) \frac{d\sigma_p}{dEdK}(v) \quad (\text{II.16})$$

où Z_{eff}^2 est le carré de la charge effective de l'alpha incident et v sa vitesse. L'utilisation de la charge effective de l'alpha permet de prendre en compte l'effet d'écran de la charge nucléaire causé par les électrons périphériques de la particule incidente.

Sur la figure II-7, les sections efficaces pour les différents transferts de charge des alphas ont été reportées en fonction de l'énergie des particules initiales. Nous pouvons observer un bon accord entre les données simulées avec Geant4-DNA et les données expérimentales de Rudd et al. [RUD85c, RUD85d] et Sataka et al. [SAT90] obtenues dans la vapeur d'eau.

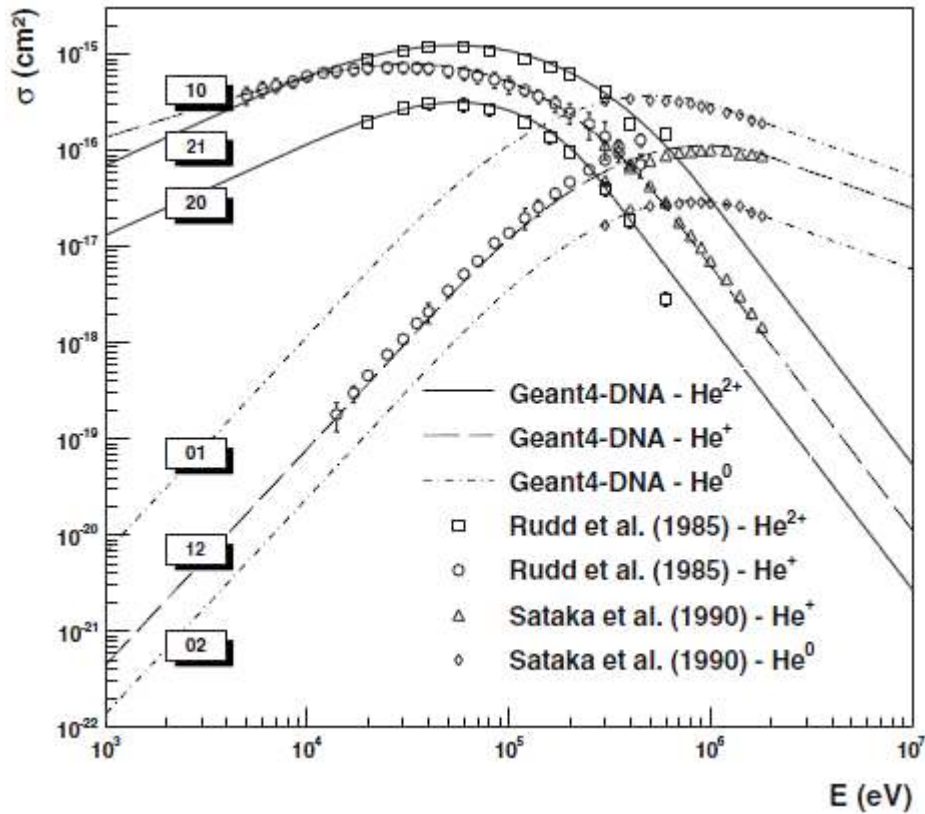


Figure II-7 : Sections efficaces pour les transferts de charge des alphas dans l'eau liquide pour He^{2+} (ligne continue), He^+ (ligne en tirets) et He^0 (ligne en tirets et points) [INC10].

II.3.2 Description des interactions des particules chargées légères : les électrons

Les électrons interagissent de façon prépondérante avec les électrons du milieu qu'ils traversent. Comme pour les particules chargées lourdes, il faudra prendre en compte les interactions inélastiques (ionisation et excitation) mais il ne faudra pas oublier également dans ce cas de

prendre en compte les collisions élastiques. Ces collisions ont pour conséquence de modifier la direction de la particule sans pour autant contribuer à sa perte d'énergie. Dans le cadre de l'extension des processus de faibles énergies, les excitations vibrationnelles ont également été implémentées et correspondent à la perte d'énergie des électrons en dessous de 8,22 eV, correspondant à l'énergie d'excitation de la dernière couche de l'eau, jusqu'à leur thermalisation.

Plus rarement, à haute énergie, les électrons peuvent interagir directement avec le noyau des atomes du milieu traversé, il se produit alors le phénomène de rayonnement de freinage. L'électron est alors dévié de sa trajectoire à cause du champ coulombien de l'atome. Ce changement de direction s'accompagne alors de l'émission d'un rayonnement X de freinage. Néanmoins, ce phénomène ne peut se produire que pour des électrons très énergétiques et si le milieu traversé est constitué d'atomes lourds, ce qui n'est pas le cas dans le cadre de cette étude. Le rayonnement de freinage n'est donc pas pris en compte dans les processus Geant4-DNA.

Dans la suite de cette section, nous allons détailler les modèles utilisés pour calculer les sections efficaces d'interaction pour les différents processus et leur domaine de validité.

II.3.2.1 Interactions inélastiques

Dans le cas des interactions inélastiques, les sections efficaces d'interaction sont calculées à partir de la première approximation de Born basée sur les données optiques de Heller [HEL74], comme dans le cas des protons, mais en suivant le formalisme diélectrique décrit par Emfietzoglou et al. [EMF02a, EMF02b, EMF05c].

De plus, lorsque l'énergie des électrons devient de plus en plus faible, des termes correctifs coulombiens, qui tiennent compte de l'énergie potentielle gagnée par l'électron incident dans le champ de la molécule d'eau et du fait que l'on ne peut pas distinguer l'électron projectile de l'électron secondaire, doivent être pris en compte [DIN98]. Néanmoins, comme dans le cas des protons, la première approximation de Born n'est pas applicable pour l'ionisation de la couche K car l'énergie cinétique de l'électron dans la couche est proche de celle du projectile. De la même manière que pour les protons, dans ce cas précis, le modèle choisi est celui du rapport 55 de l'ICRU [ICRU55].

Les figures II-8 et II-9, extraites de la publication d'Incerti et al [INC10], reportent l'évolution de la section efficace totale d'ionisation et d'excitation des électrons dans l'eau liquide de Geant4-DNA comparée à des données expérimentales obtenues dans la vapeur d'eau.

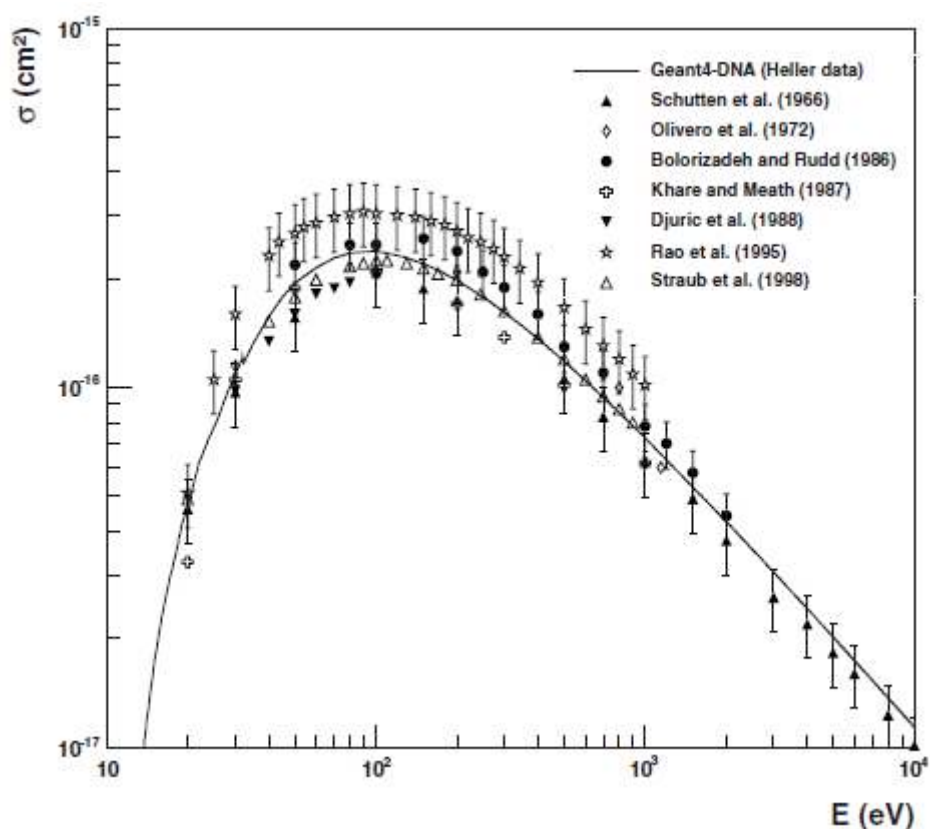


Figure II-8 : Sections efficaces totales d'ionisation des électrons dans l'eau liquide [INC10].

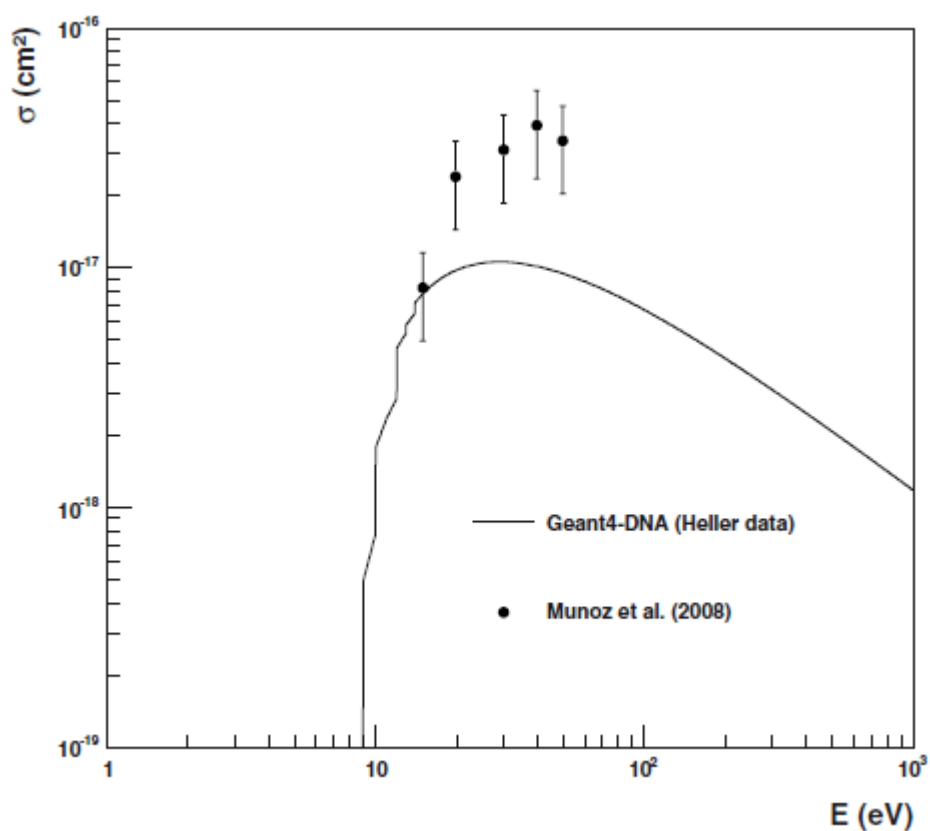


Figure II-9 : Sections efficaces totales d'excitation des électrons dans l'eau liquide [INC10].

Concernant les sections efficaces totales d'ionisation, nous pouvons observer un bon accord global entre les données simulées avec Geant4-DNA et les données expérimentales hormis pour les données expérimentales de Rao et Al. [RAO95].

Concernant les sections efficaces totales d'excitation des électrons dans l'eau liquide les résultats obtenus avec Geant4-DNA n'ont pu qu'être comparés à un jeu de données expérimentales car peu de données sont disponibles dans la littérature. Nous pouvons observer une sous estimation dans le cas des données obtenues avec Geant4-DNA due aux seuils de coupure utilisé pour chaque état d'excitation. D'un point de vue théorique, la première approximation de Born est valide jusqu'à thermalisation des électrons. Néanmoins, ce n'est pas le cas dans la réalité, car pour induire des excitations électroniques dans la molécule d'eau (8,22 eV), les électrons doivent avoir une énergie cinétique suffisante (seuil en énergie).

II.3.2.2 Collision élastique

Les collisions élastiques ne contribuent pas à la perte d'énergie des électrons mais par contre elles contribuent aux changements de direction de ceux-ci, notamment pour les faibles énergies où elles sont prépondérantes. Les collisions élastiques constituent donc un élément important à prendre en compte dans la modélisation de la topologie de la trace. Dans le code Geant4-DNA, deux modèles sont disponibles.

Le modèle dédié à la physique des faibles énergies est celui d'Aouchiche & Champion [CHA09, CHA12] qui est également applicable pour les positrons dans l'eau liquide et gazeuse. Dans ce modèle, les diffusions élastiques sont traitées dans le formalisme quantique de développement en ondes partielles, permettant ainsi de traiter la diffusion des électrons lents. Le principal atout de ce modèle est qu'il a directement été développé pour la simulation des électrons de basses énergies dans l'eau liquide. C'est ce modèle qui est utilisé par défaut dans Geant4-DNA.

Néanmoins, le modèle classique d'écran de Rutherford, appelé « Screened Rutherford », décrit par Emfietzoglou [EMF02b, EMF03b] est également disponible. Ce modèle tient compte de l'écrantage du noyau et est défini pour les électrons ayant des énergies supérieures à 0,2 keV. Pour les énergies inférieures à 0,2 keV, l'approche semi-empirique de Brener & Zaider [BRE83] est utilisée.

La figure II-10 reporte les sections efficaces élastiques des électrons, des deux modèles disponibles dans Geant4-DNA, comparées à des données expérimentales obtenues pour la vapeur d'eau [INC10].

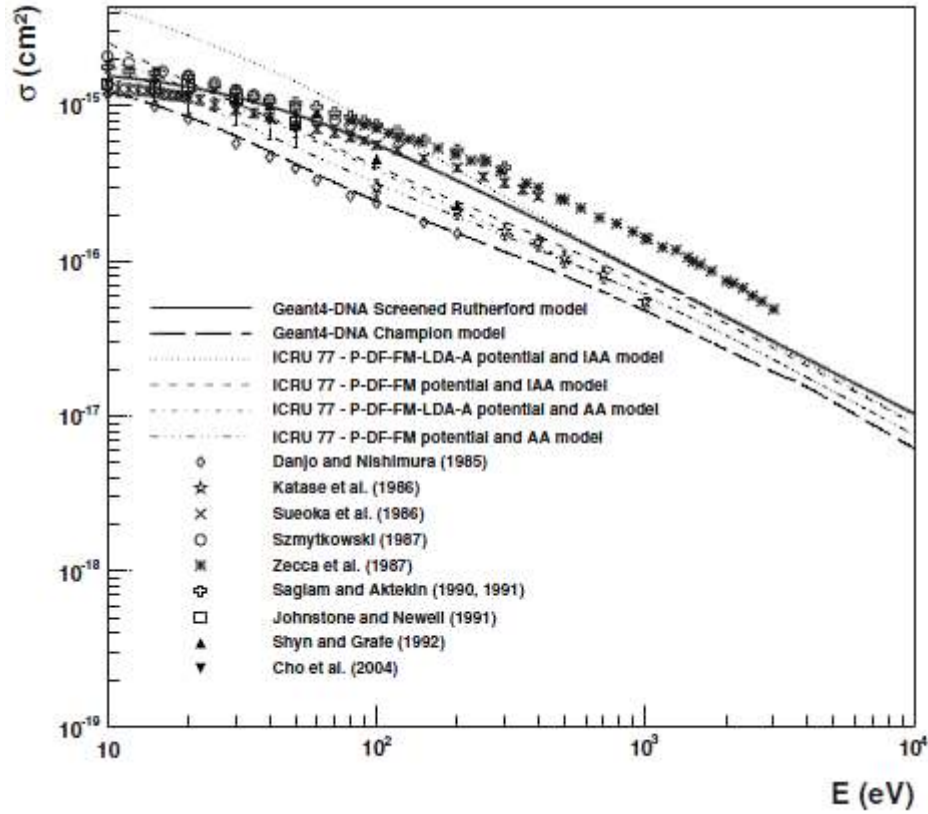


Figure II-10 : Sections efficaces élastiques des électrons dans l'eau liquide en fonction de l'énergie des électrons incidents comparées à des données expérimentales obtenues dans la vapeur d'eau et aux recommandations de l'ICRU 77 [INC10].

En général, un bon accord est observé entre les données obtenues suite aux simulations réalisées avec Geant4-DNA et les données expérimentales bien que quelques écarts soient observés. En effet les données expérimentales et théoriques ont la même tendance mais des valeurs plus importantes sont trouvées dans la plupart de ces travaux et notamment dans ceux de Sueoka [SUE86] et de Zecca et al. [ZEC87] où des valeurs supérieures sont trouvées sur toute la gamme en énergie considérée.

Dans leur publication Champion et al. [CHA09] expliquent que leur modèle théorique, pour les énergies incidentes supérieures à 100 eV, prédit des sections efficaces 15% supérieures pour la phase vapeur par rapport à la phase liquide tandis qu'en dessous de 100 eV la tendance est inversée, cette différence étant principalement due à la différence des potentiels entre les deux phases et notamment à la composante relative à la polarisation.

II.3.2.3 Excitation vibrationnelle et rotationnelle et attachement électronique dissociatif

Les électrons ayant des énergies inférieures à celle de la dernière couche d'excitation de l'eau (8,22 eV), ne peuvent plus perdre leur énergie par ionisation ou excitation électronique. Les seuls processus permettant à l'électron de perdre son énergie sont les processus d'excitation vibrationnelle et rotationnelle (jusqu'à 0,025 eV) et l'attachement électronique dissociatif (entre 4 eV et 13 eV).

Concernant le processus d'excitation vibrationnelle et rotationnelle, ce sont les sections efficaces d'interaction expérimentales obtenues par Michaud & Sanche qui sont implémentées dans le code [MIC03]. De manière à prendre en compte les différences entre les phases liquide et solide de l'eau, ces sections efficaces ont été multipliées par 2 [MES02]. Ce processus est disponible pour les électrons ayant des énergies inférieures à 100 eV et est négligeable au-dessus. Les déviations angulaires ont été négligées pour ce processus, d'une part, pour simplifier la simulation et, d'autre part, car les déviations angulaires sont principalement dues au processus de diffusion élastique à ces énergies.

Pour le processus d'attachement électronique dissociatif, les sections efficaces ont été déterminées à partir du modèle de Melton [MEL72].

Pour conclure cette partie sur l'interaction des électrons dans l'eau liquide, la figure II-11 reporte l'évolution des sections efficaces des différents processus d'interactions disponibles dans G4-DNA pour les électrons dans l'eau liquide en fonction de l'énergie des électrons initiaux [MUN12]. Cette figure met en évidence les processus qui sont prépondérants en fonction de l'énergie des électrons.

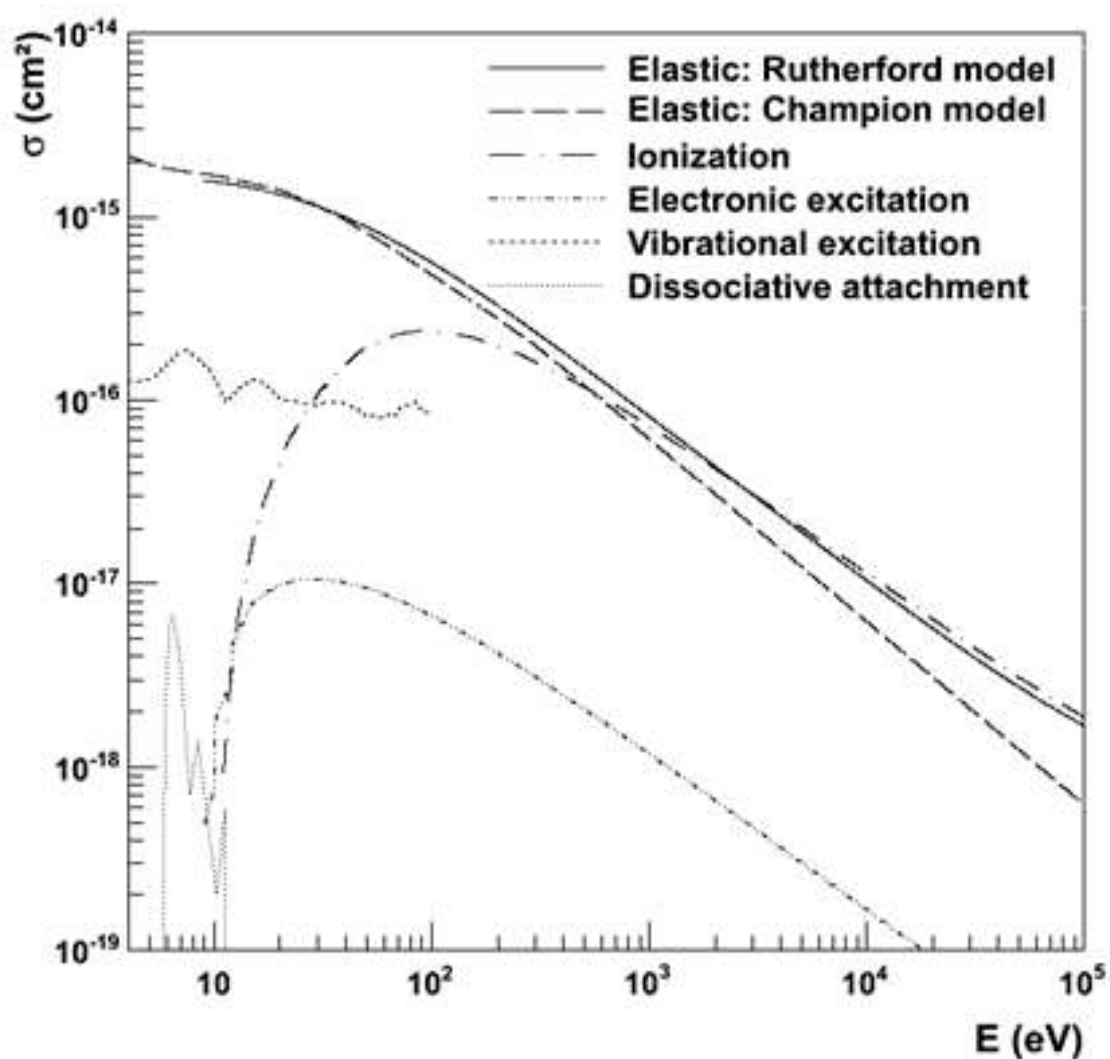


Figure II-11 : Sections efficaces des différents processus d'interaction disponibles dans Geant4-DNA pour la simulation des électrons dans l'eau liquide.

D'après cette figure, nous pouvons observer que, pour les électrons ayant des énergies supérieures à 20 eV, la perte d'énergie des électrons se fait principalement par le processus d'ionisation. En dessous de ce seuil en énergie, c'est le processus d'excitation vibrationnelle qui est prépondérant. Cette figure met également en évidence le fait que la diffusion élastique est un processus majeur pour la simulation des électrons. En effet, bien que ce processus ne contribue pas à la perte d'énergie des électrons, il contribue aux changements de direction des électrons lors de leurs parcours et ne peut en aucun cas être négligé lors de la simulation de la structure de la trace à l'échelle nanométrique.

Enfin, pour conclure ce chapitre sur les différents modèles implémentés pour calculer les sections efficaces d'interaction dans Geant4-DNA, nous avons reporté dans le tableau II-5, pour les particules chargées lourdes et légères, les processus pris en compte par Geant4-DNA, dans sa version 9.5

utilisée dans les calculs de ce travail, en fonction du type de particule générée et de son énergie ainsi que le modèle physique utilisé (mis à jour sur la page web de Geant4-DNA si cela évolue) :

Tableau II-5 : Récapitulatif des processus physiques et leurs modèles associés utilisés pour les simulations dans Geant4-DNA.

Processus	Modèle	Game en énergie	Energie de coupure
ELECTRON			
Elastique	Champion/Rutherford	0 keV - 1MeV	7,4 eV - 9 eV
Excitation	Born	9 eV - 1 MeV	-
Ionisation	Born	11 eV - 1 MeV	-
Excitation vibrationnelle	Sanche	2 eV - 100 eV	-
Attachement moléculaire	Melton	4 eV - 13 eV	-
PROTON			
Excitation	Miller & Green	10 eV - 500 keV	-
	Born	500 keV - 100 MeV	-
Ionisation	Rudd	0 eV - 500 keV	100 eV
	Born	500 keV - 100 MeV	-
Transfert de charge	Dingfelder	100 eV - 100 MeV	-
HYDROGENE			
Excitation	Miller & Green	10 eV - 500 keV	-
Ionisation	Rudd	0 eV - 100 MeV	100 eV
Transfert de charge	Dingfelder	100 eV - 100 MeV	-
ALPHA			
Excitation	Miller & Green	1 keV - 400 MeV	-
Ionisation	Rudd	1 keV - 400 MeV	1 keV
Augmentation de charge	Dingfelder	1 keV - 400 MeV	-
ALPHA+			
Excitation	Miller & Green	1 keV - 400 MeV	-
Ionisation	Rudd	1 keV - 400 MeV	1 keV
Augmentation de charge	Dingfelder	1 keV - 400 MeV	-
Diminution de charge	Dingfelder	1 keV - 400 MeV	-
ALPHA++			
Excitation	Miller & Green	1 keV - 400 MeV	-
Ionisation	Rudd	1 keV - 400 MeV	1 keV
Diminution de charge	Dingfelder	1 keV - 400 MeV	-

Références

[AGO03]

S. Agostinelli et al.

Geant4 a simulation toolkit.

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A 506 (2003) 250-303.

[ALL06]

J. Allison et al.

Geant4 developments and applications.

IEEE Transacction on Nuclear Science 53 (2006) 270-278.

[BAL00]

F. Ballarini, M. Biaggi, M. Merzagora, A. Ottolenghi, M. Dingfelder, W. Friedland, P. Jacob, H. G. Paretzke.

Stochastic aspects and uncertainties in the prechemical and chemical stages of electron tracks in liquid water: a quantitative analysis based on Monte Carlo simulations.

Radiation and Environmental Biophysics 39 (2000) 179-188.

[BER63]

M. J. Berger.

Monte Carlo calculation of the penetration and diffusion of fast charge particles.

Methods in Computational Physics. Academic Press, New York 1 (1963) 135-215.

[BET33]

H. Bethe.

In: Handbuch der Physik, (Part I).

Vol 24/1. H. Geiger, K. Scheel, Eds. Springer, (1933) 273.

[BOL86a]

M. A. Bolorizadeh, M. E. Rudd.

Angular and energy dependence of cross sections for ejection of electrons from water vapor. I. 50-2000-eV electron impact.

Physical Review A 33 (1986) 882-887.

[BOL86b]

M. A. Bolorizadeh, M. E. Rudd.

Angular and energy dependence of cross sections for ejection of electrons from water vapor. II. 15-150-keV proton impact.

Physical Review A 33 (1986) 888-892.

[BRE83]

D. J. Brenner and M. Zaider.

A computationally convenient parametrisation of experimental angular distributions of low energy electrons elastically scattered off water vapour.

Physics in Medicine and Biology 29 (1983) 443-447.

[BRE00]

J. Breisemeiter.

MCNP - a general Monte carlo N-particle transport code, version 4c.

Rapport: LA-13709-M Version 4C, Los Alamos National Laboratory, Etats-Unis.

[BUF77]

G. Buffon.

Essai d'arithmétique

Supplément à la naturelle (1777).

[CHA06]

S. Chauvie et al.

Monte Carlo simulation of interactions of radiation with biological systems at the cellular and DNA levels: The Geant4-DNA Project.

Radiation Research 166 (2006) 652-689.

[CHA07]

S. Chauvie et al.

Geant4 physics processes for microdosimetry simulation: Design foundation and implementation of the first set of models.

IEEE Transactions on Nuclear Science 54 (2007) 2619-2628.

[CHA09]

C. Champion, S. Incerti, H. Aouchiche, D. Oubaziz.

A free parameter theoretical model for describing the electron elastic scattering in water in Geant4 toolkit.

Radiations Physics and Chemistry 78 (2009) 745-750.

[CHA12]

C. Champion, S. Incerti, H. Tran, Z. El Bitar.

Electron and proton elastic scattering in water vapour.

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 273 (2012) 98-101.

[CHA13]

C. Champion, S. Incerti, H. Tran, M. Karamitros, J. I. Shin, S. B. Lee, H. Lekadir, M. Bernal, Z. Francis, V. Ivanchenko, O. A. Fojon, J. Hanssen, R. D. Rivarola.

Proton transport in water and DNA components: A Geant4 Monte Carlo simulation.

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 306 (2013) 165-168.

[CHO04]

H. Cho, Y. S. Park, H. T. Anaka, S. J. Buckman.

Measurements of elastic electron scattering by water vapour extended to backward angles.

Journal of Physics B 37 (2004) 625-634.

[CIR10]

G. A. P. Cirrone, G. Cuttone, F. Di Rosa, L. Pandola, F. Romano, Q. Zhang.

Validation of the Geant4 electromagnetic photon cross-sections for elements and compounds.

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A 618 (2010) 315-322.

[DAN85]

A. Danjo, H. Nishimura.

Elastic scattering of electrons from H₂O molecule.

Journal of the Physical Society of Japan 54 (1985) 1224-1227.

[DIN98]

M. Dingfelder, D. Hantke, M. Inokuti, H. G. Paretzke.

Electron in elastic-scattering cross sections in liquid water.

Radiation Physics and Chemistry 53 (1998) 1-18.

[DIN00]

M. Dingfelder, M. Inokuti, H. G. Paretzke.

Inelastic-collision cross sections of liquid water for interactions of energetic protons.

Radiation Physics and Chemistry 59 (2000) 255-275.

[DIN02]

M. Dingfelder.

Cross sections calculations in condensed media: charged particles in liquid water.

Radiation Protection dosimetry 99 (2002) 23-28.

[DIN05a]

M. Dingfelder, H. G. Paretzke, L. H. Toburen.

An effective charge scaling model for ionization of partially dressed helium ions with liquid water.

in Proceedings of the Monte Carlo 2005 Topical Meeting, Chattanooga, TN, 17-21 April 2005.

[DIN05b]

M. Dingfelder, L. H. Toburen, H. G. Paretzke.

The Monte Carlo method: Versatility unbounded in a dynamic computing world.

American Nuclear Society (2005).

[DJU88]

N. Lj. Djurić, I. M. Čadež, M. V. Kurepa.

H₂O and D₂O total ionization cross-sections by electron impact.

International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes 83 (1988) R7-R10.

[EMF02a]

D. Emfietzoglou.

Semi-empirical inelastic cross-sections for electron transport in liquid water.

Radiation Protection Dosimetry 99 (2002) 39-46.

[EMF02b]

D. Emfietzoglou, M. Moscovith.

Inelastic collision characteristics of electrons in liquid water.

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 193 (2002) 71-78.

[EMF03a]

D. Emfietzoglou, M. Moscovitch, A. Pathak.

Inelastic cross-sections of energetic protons in liquid water calculated by model dielectric functions and optical data.

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 212 (2003) 101-109.

[EMF03b]

D. Emfietzoglou.

Inelastic cross-sections for electron transport in liquid water : a comparison of dielectric models.

Radiations Physics and chemistry 66 (2003) 373-385.

[EMF05a]

D. Emfietzoglou, M. Moscovitch, A. Pathak.

Modelling the energy and momentum dependent loss function of the valence shells of liquid water.

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 230 (2005) 77-84.

[EMF05b]

D. Emfietzoglou, F. Cucinotta, H. Nikjoo.

A complete dielectric response model for liquid water: a solution of the Bethe ridge problem.

Radiation Research 164 (2005) 202-211.

[EMF05c]

D. Emfietzoglou, H. Nikjoo.

The effect of model approximations on single collision distributions of low energy electrons in liquid water.

Radiation Research 163 (2005) 98-111.

[EMF06a]

D. Emfietzoglou, H. Nikjoo, A. Pathak.

Electronic cross-sections for proton transport in liquid water based on optical-data models.

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 249 (2006) 26-28.

[EMF06b]

D. Emfietzoglou, H. Nikjoo, A. Pathak.

A comparative study of dielectric response function models for liquid water.

Radiation Protection Dosimetry 122 (2006) 64-65.

[EMF07]

D. Emfietzoglou, H. Nikjoo, I. D. Petsalakis, A. Pathak.

A consistent dielectric response model for water ice over the whole energy-momentum plane.

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 256 (2007) 141-147.

[FER11]

A. Ferrari, P. R. Sala, A. Fasso, J. Ranft.

FLUKA : a multi-particle transport code.

Manuel d'utilisation du code (2011).

[FRA07]

Z. Francis.

Simulations Monte-Carlo et étude microdosimétrique pour des irradiations cellulaires à faibles doses en neutrons de 14 MeV.

Rapport de thèse (2007), Université Blaise Pascal, Clermont Ferrand.

[FRA11a]

Z. Francis, S. Incerti, R. Capra, B. Mascialino, G. Montarou, V. Stepan, C. Villagrasa.

Molecular scale track structure simulations in liquid water using the Geant4-DNA Monte Carlo processes.

Applied Radiation and Isotopes 69 (2011) 220-226.

[FRA11b]

Z. Francis, S. Incerti, M. Karamitros, H. N. Tran, C. Villagrasa.

Stopping power and ranges of electrons, protons and alpha particles in liquid water using the GEANT4-DNA package.

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B. 269 (2011) 2307-2311.

[FRI10]

W. Friedland, P. Jacob, P. Kunderát.

Stochastic simulation of DNA double-strand break repair by non-homologous end joining based on track structure calculations.

Radiation Research 173 (2010) 677-688.

[FRI11]

W. Friedland, M. Dingfelder, P. Kunderat, P. Jacob.

Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC.

Mutation Research 711 (2011) 28-40.

[GEA11]

Geant4 collaboration.

Geant4 user's guide for application developers, version geant4 9.5.

<http://geant4.web.cern.ch/geant4/UserDocumentation/UsersGuides/InstallationGuide/BackupVersions/V9.5/fo/BookInstalGuide.pdf>

[HAR94]

C. L. Hartmann Siantar, W. P. Chandler, J. A. Rathkopf, M.M. Svatis, R. M. White.

PEREGRINE: an all particle Monte Carlo code for radiation therapy.

Guide d'utilisation, Lawrence Livermore Laboratory, Californie (1994).

[HAY98]

H. Hayashi, N. Watanabe, Y. Udagawa.

Optical spectra of liquid water in vacuum UV region by means of inelastic X-ray scattering spectroscopy.

Journal of Chemical Physics 108 (1998) 823-825.

[HEI06]

J. S. Heindricks, G. W. McKinney, J. W. Durkee, J. P. Finch, M.L. Fensin, M. R. James, R. C. Johns, D. B. Pelowitz, L. S. Waters.

MCNPX, version 26C.

Rapport: LA-RU-06-7991, Los Alamos National Laboratory, Etats-Unis (2006).

[HEL74]

J. M. Heller, R. N. Hamm, R. D. Birkhoff, L. R. Painter.

Collective oscillation in liquid water.

Journal of Chemical Physics 60 (1974) 3483-3486.

[HEN92]

S. Henss, H. Paretzke.

Biophysical modelling of radiation induced damage in chromosomes.

in: K. Chadwick, G. Moschini, M. Varma (Eds.), *Biophysical Modelling of Radiation Effects*, Adam Hilger, Bristol, Philadelphia and New York (1992) 69-76.

[ICRU49]

Stopping powers and ranges for protons and alphas particles.

International Commission on Radiation Units and Measurements, Report No. 49 (1993).

[ICRU55]

Secondary electron spectra from charged particle interactions.

International Commission on Radiation Units and Measurements, Report No. 55 (1996).

[ICRU77]

Elastic scattering of electrons and positrons.

International Commission on Radiation Units and Measurements, Report No. 77 (2007).

[INC10]

S. Incerti, A. Ivanchenko, M. Karamitros, A. Mantero, P. Moretto, H. N. Tran, B. Mascialino, C. Champion, V. N. Ivanchenko, M. A. Bernal, Z. Francis, V. Villagrasa, G. Baldacchino, P. Guèye, R. Capra, P. Nieminen, C. Zacharatou.

Comparison of Geant4 very low energy cross section models with experimental data in water.

Medical Physics 37 (2010) 4692-4708.

[JOH91]

W. M. Johnstone, W. R. Newell.

Absolute vibrationally elastic cross sections for electrons scattered from water molecules between 6 eV and 50 eV.

Journal of Physics B 24 (1991) 3633-3643.

[KAR11]

M. Karamitros et al.

Modeling radiation chemistry in the Geant4 toolkit.

Nuclear Science and Techniques 2 (2011) 503-508.

[KAR12]

M. Karamitros.

Extension de l'outil Monte Carlo généraliste Geant4 pour la simulation de la radiolyse de l'eau dans le cadre du projet Geant4-DNA

Rapport de thèse, Université Bordeaux 1 (2012).

[KAT86]

K. Katase et al.

Elastic scattering of electrons by water molecules over the range 100-1000 eV.

Journal of Physics B 19 (1986) 2715-2734.

[KHA87]

S. P. Khare, W. J. Meath.

Cross sections for the direct and dissociative ionisation of NH₃, H₂O and H₂S by electron impact.

Journal of Physics B 20 (1987) 2101-2116.

[LAN70]

L. D. Landau, E. M. Lifshitz.

Electrodynamics of Continuous Media.

Chap. XIV second edn. In: J. B. Sykes, J. S. Bell, M. J. Kearsley, Eds. Pergamon Press (1970).

[LES62]

G. Leslie.

Now it can be told: the story of the Manhattan project.

Edition Harper, New York (1962).

[MEL72]

E. C. Melton.

Cross sections and interpretations of dissociative attachment reactions producing OH-, O- and H- in H₂O+.

Journal of Chemical Physics 57 (1972).

[MES02]

J. Meesungnoen, J. P. Jay-Gerin, A. Filali-Mouhim, S. Mankhetkorn.

Low energy electron penetration range in liquid water.

Radiation Research 158 (2002) 657-660.

[MET53]

N. Metropolis, A. W. Rosenbluth, M. N. Rosenbluth, A. H. Teller, E. Teller.

Equation of state calculations by fast computing machines.

Journal of Chemical Physics 21 (1953).

[MIC03]

M. Michaud, A. Wen, L. Sanche.

Cross section for low energy (1-100 eV) electron elastic and inelastic scattering in amorphous ice.

Radiation Research 159 (2003) 3-22.

[MIL73]

J. H. Miller, A. E. S. Green.

Proton energy degradation in water vapour.

Radiation Research 54 (1973) 343-363.

[MUN08]

A. Muñoz et al.

Single electron tracks in water vapor for energies below 100 eV.

International Journal of Mass Spectrometry 277 (2008) 175-179.

[MUN12]

A. Muñoz, M. C. Fuss, M. A. Cortes-Giraldo, S. Incerti, V. Ivanchenko, A. Ivanchenko, J. M. Quesada, F. Salvat, C. Champion, G. Garcia Gomez-Tejedor.

Monte Carlo methods to model radiation interactions and induced damage, Radiation Damage in Biomolecular Systems.

Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering, Part 2 (2012) 203-225.

[NIK06]

H. Nikjoo, S. Uehara, D. Emfietzoglou, F. A. Cucinotta.

Track-structure codes in radiation research.

Radiation Measurements 41 (2006) 1052-1074.

[OLI72]

J. J. Olivero, R. W. Stagat, A. E. S. Green.

Electron deposition in water vapour, with atmospheric applications.

Journal of Geophysical Research 77 (1972) 4797-4811.

[PAR87]

H.G.Paretzke

Radiation track structure theory

in:G.R.Freeman(Ed.),Kinetics of Non homogeneous Processes, Wiley, New York (1987) 89-170.

[PAR91]

H. G. Paretzke, J. E. Turner, R. N. Hamm, R. H. Ritchie, H. A. Wright.

Spatial distributions of inelastic events produced by electrons in gaseous and liquid water

Radiation Research 127 (1991) 121-129.

[RAO95]

M. V. V. S. Rao, I. Iga, S. K. Srivastava.

Ionization cross-sections for the production of positive ions from H₂O by electron impact.

Journal of Geophysical Research 100 (1995) 26421-26425.

[RUD66]

P. S. Rudolph, C. E. Melton.

Experimental and theoretical considerations for ionization of simple hydrocarbons, H₂, D₂, O₂, H₂O, and the rare gases by 2.2-MeV α particles and by electrons in a mass spectrometer.

Journal of Chemical Physics 45 (1966) 2227-2232.

[RUD85a]

M. E. Rudd, Y. K. Kim, D. H. Madison, J. W. Gallagher.

Electron production in proton collisions: total cross sections.

Reviews of Modern Physics 57 (1985) 965-994.

[RUD85b]

M. E. Rudd et al.

Cross sections for ionization of water vapour by 7-4000-keV protons.

Physical Review A 31 (1985) 492-494.

[RUD85c]

M. E. Rudd, T. V. Goffe, A. Itoh.

Ionization cross sections for 10-300 keV/u and electron-capture cross sections for 5-150 keV/u 3He^{2+} ions in gases.

Physical Review A 32 (1985) 2128-2133.

[RUD85d]

M. E. Rudd, A. Itoh, T. V. Goffe.

Cross sections for ionization, capture, and loss for 5-450 keV He^+ on water vapour.

Physical Review A 32 (1985) 2499-2500.

[RUD92]

M. E. Rudd, Y. K. Kim, D. H. Madison, T. J. Gay.

Electron production in proton collisions with atoms and molecules: energy distributions.

Reviews of Modern Physics 64 (1992) 441-490.

[SAG90]

Z. Saglam, N. Aktekin.

Absolute total cross section for electron scattering on water in the energy range 25-300 eV.

Journal of Physics B 23 (1990) 1529-1536.

[SAG91]

Z. Saglam, N. Aktekin.

Absolute total cross sections for scattering of electrons by H_2O in the energy range 4-20 eV.

Journal of Physics B 24 (1991) 3491-3496.

[SAL99]

F. Salvat, J. M. Fernandez-Varea, J. Sempau.

Practical aspects of Monte Carlo simulation of charged particle transport: mixed algorithm and variance reduction techniques.

Radiation Environment and Biophysics 38 (1999) 15-22.

[SAL11]

F. Salvat, J. M. Fernandez-Varea, J. Sempau.

PENELOPE-2011: A code system for Monte Carlo simulation of electron and photon transport.

Workshop proceedings Barcelona, Spain (2011).

[SAT90]

M. Sataka, A. Yagishita, Y. Nakai.

Measurement of charge-changing cross sections in collisions of He and He⁺ with H₂, O₂, CH₄, CO and CO₂.

Journal of Physics B 23 (1990) 1225-1234.

[SCH66]

J. Schutten, F. J. de Heer, H. R. Moustafa, A. J. H. Boerboom, J. Kistenmaker.

Gross- and partial-ionization cross sections for electrons on water vapor in the energy range 0.1 - 20 keV.

Journal of Chemical Physics 44 (1966) 3924-3928.

[SHY92]

T. W. Shyn, A. Grafe.

Angular distribution of electrons elastically scattered from water vapour.

Physical Review A 46 (1992) 4406-4409.

[STR98]

H. C. Straub, B. G. Lindsay, K. A. Smith, R. F. Stebbings.

Absolute partial cross sections for electron-impact ionization of H₂O and D₂O from threshold to 1000 eV.

Journal of Chemical Physics 108 (1998) 109-116.

[SUE86]

O. Sueoka, S. Mori, Y. Katayama.

Total cross sections for electrons and positrons colliding with H₂O molecules.

Journal of Physics B 19 (1986) L373-L378.

[SZM87]

C. Szmytkowski.

Absolute total cross sections for electron-vapour scattering.

Chemical Physics Letters 136 (1987) 363-367.

[TOB80]

L. H. Toburen, W. E. Wilson, R. J. Popowich.

Secondary electron emission from ionization of water vapor by 0.3 to 2.0 MeV He⁺ and He²⁺ ions.

Radiation Research 82 (1980) 27-44.

[UEH93]

S. Uehara, H. Nikjoo, D. T. Goodhead.

Cross-sections for water vapour for the Monte Carlo electron track structure code from 10 eV to MeV region.

Physics in Medicine and Biology 38 (1993) 1841-1858.

[VIL10]

C. Villagrasa, Z. Francis, S. Incerti.

Physical models implemented in the Geant4-DNA extension of the Geant4 toolkit for calculating initial radiation damage at the molecular level.

Radiation Protection Dosimetry 143 (2011) 214-218.

[WEB01]

<http://www.ptb.de/emrp/bioquart-home.html>

[WIL99]

W. E. Wilson, H. Nikjoo.

A Monte Carlo code for positive ion track simulation.

Radiation Environmental Biophysics 38 (1999) 97-108.

[WIL04]

W. E. Wilson, J. H. Miller, D. J. Lynch, R. R. Batdorf.

Analysis of low energy electron track structure in liquid water.

Radiation Research 161 (2004) 1350-1355.

[ZEC87]

A. Zecca, G. Karwasz, S. Oss, R. Grisenti, R. S. Brusa.

Total absolute cross sections for electron scattering on H₂O at intermediate energies.

Journal of Physics B 20 (1987) L133-L136.

CHAPITRE III- LE MODÈLE GÉOMÉTRIQUE

L'objectif de ce travail de thèse étant d'évaluer les dommages induits par les rayonnements ionisants à l'échelle subcellulaire, il a été important d'implémenter un modèle géométrique détaillé de la cible étudiée dans ce travail, c'est-à-dire la molécule d'ADN. Ce chapitre est donc consacré à la présentation de la géométrie que nous avons implémentée dans le code de calcul et qui a fait l'objet d'une publication [DOS13].

Dans un premier temps nous ferons un rappel des modèles géométriques de l'ADN et de noyaux cellulaires existants dans d'autres codes de calcul et nous mettrons en évidence la raison pour laquelle il était nécessaire d'implémenter notre modèle géométrique. Ensuite nous ferons quelques rappels généraux sur la manière de définir une géométrie dans le code Geant4. Notre modèle géométrique sera ensuite présenté, en détaillant les différents éléments implémentés pour représenter de la manière la plus réaliste possible la forme de la molécule d'ADN localisée à l'intérieur des noyaux cellulaires. Ce modèle géométrique va nous permettre d'effectuer une première sélection des dépôts d'énergie situés dans des volumes dits « sensibles » pour la cassure de brin et sa modification permettra d'évaluer l'influence de la géométrie de la cible sur le nombre des dommages calculés.

Enfin, à la fin de ce chapitre nous détaillerons également l'algorithme de clusterisation qui a été utilisé pour le traitement des données. En effet, les dépôts d'énergie sélectionnés à l'aide de la géométrie sont analysés avec un algorithme de type DBSCAN qui révèle les groupements des dépôts qui peuvent être à l'origine des dommages, à partir de seulement deux paramètres : la distance entre les points et l'énergie contenue dans le cluster.

III.1 Etat de l' art des modèles géométriques existants

Depuis ces trois dernières décennies, de nombreux modèles géométriques, de plus en plus élaborés, ont été implémentés dans différents codes de simulation Monte Carlo de manière à être utilisés comme cible biologique pour les études de radiobiologie.

Les premiers modèles de l'ADN étaient représentés par des cylindres ou des sphères sans aucune structure interne. Par exemple dans les premiers travaux de Goodhead et Nikjoo [GOO89], trois cylindres de dimensions différentes étaient utilisés pour représenter un morceau d'ADN (2*2 nm), un nucléosome (10*5 nm) ou un morceau de fibre de chromatine (25*25 nm).

Ensuite ces structures ont été divisées en plusieurs parties représentant soit les bases de l'ADN soit les groupes sucre / phosphate (squelette de l'ADN) [CHA89] comme il est illustré sur la figure III-1. Le cylindre central de 1 nm représente le volume occupé par les paires de bases tandis que les arcs de cercle représentent le volume occupé par les groupes sucre / phosphate. Une rotation de ces

derniers est effectuée autour du cylindre central de manière à tenir compte de la torsion d'un brin d'ADN.

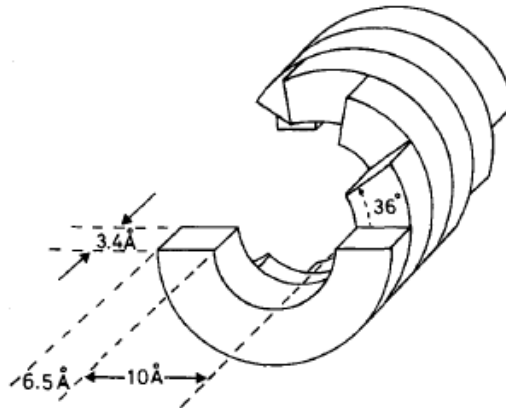


Figure III-1 : Géométrie utilisée par Charlton et al. [CHA89].

Par la suite des modèles de plus en plus sophistiqués ont été implémentés dans différents codes de calcul tels que celui décrit par Michalik et Begusova [MIC94], Nikjoo et Girard [NIK11], Friedland et al. [FRI98, FRI03, FRI11] et enfin celui de Bernal et Liendo [BER09].

Le modèle implémenté par Michalik et Begusova [MIC94] (implémenté au sein du code TRION) consiste en une description géométrique détaillée d'un nucléosome (figure III-2). Ce nucléosome est composé d'une histone cylindrique (diamètre de $6,52 \text{ nm}$ et hauteur de $5,7 \text{ nm}$) autour duquel un tube de $2,4 \text{ nm}$ de diamètre, représentant la double hélice de l'ADN, est enroulé. Deux tours de ce tube sont enroulés avec un pas de $2,7 \text{ nm}$ autour de l'histone représentant ainsi 166 paires de bases. Une partie d'ADN lieur (reliant deux nucléosomes) de 34 paires de bases est également représentée dans ce modèle.

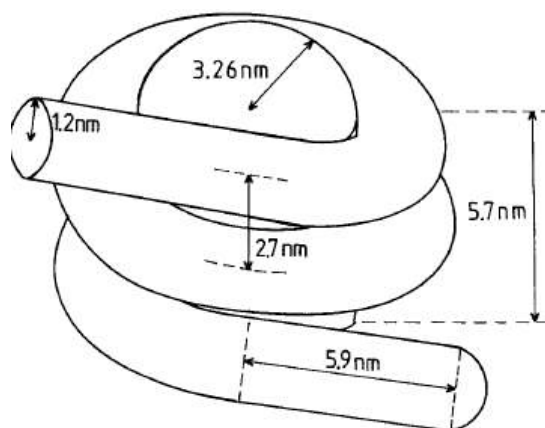


Figure III-2 : Nucléosome implémenté par Michalik et Begusova [MIC94].

Les deux modèles géométriques implémentés par Nikjoo et Girard [NIK11] et par Friedland et al [FRI98, FRI03, FRI11] ont été conçus comme des modules indépendants qui se superposent aux structures de traces obtenus avec les codes de calcul dans un milieu homogène d'eau liquide (PHITS et KURBUC pour Nikjoo et Girard [NIK11] et PARTRAC pour Friedland et al [FRI98, FRI03, FRI11]). Ces codes permettent la simulation des traces physiques mais également la simulation des étapes physico-chimique et chimique permettant d'évaluer les effets indirects des rayonnements. Par conséquent, les résultats obtenus avec ces codes permettent de calculer un nombre absolu de dommages à l'ADN. Ces deux modèles géométriques représentent le génome complet de noyaux cellulaires eucaryotes, contenant environ 6 Giga paires de bases (6 Gbp) divisés en différents niveaux de compaction : la double hélice de l'ADN (forme B), nucléosomes, fibre de chromatine, boucle de chromatine et territoires chromosomiques.

Concernant le modèle implémenté par Nikjoo et Girard [NIK11], une forme canonique de la molécule d'ADN a été utilisée pour construire les nucléosomes ainsi que les fibres de chromatine de 30 nm de diamètre de forme solénoïde. Ces fibres sont ensuite utilisées pour former des boucles dans les domaines chromosomiques. Au final, la totalité du génome humain est placée dans une sphère de 10 µm de diamètre représentant le noyau d'un lymphocyte (figure III-3).

Le modèle géométrique développé par Friedland et al [FRI98, FRI03, FRI11] représente l'ensemble du génome de deux types de cellule : un fibroblaste et un lymphocyte. Le noyau de la cellule fibroblaste est modélisé par un cylindre de 20 µm de diamètre et de 5 µm d'épaisseur implémenté en phase G0/G1 du cycle cellulaire (figure III-3, [FRI11]). Le noyau du lymphocyte est quant à lui modélisé par une sphère de 10 µm de diamètre [FRI08, FRI11]. Dans ces modèles, la double hélice de l'ADN est décrite jusqu'à un niveau atomistique et les fibres de chromatine de 30 nm de diamètre, de forme solénoïde ou zigzag, sont composées d'un arrangement flexible des nucléosomes. A partir de ces fibres, des boucles de chromatine ont été implémentées, chacune d'elle est composée de 100 kbp et est formée à partir 18 éléments de base [FRI11]. Le principal avantage de cette géométrie est que ces boucles peuvent être associées de manière à former une séquence d'ADN ininterrompue permettant ainsi de calculer la longueur et la quantité des fragments d'ADN créés suite à des cassures double brin radio-induites. Dans une version antérieure de cette géométrie [FRI98], les boucles de fibres de chromatine étaient représentées sous forme de losange, et sept de ces losanges étaient assemblés de manière à former une rosette de 0,5 Mbp. Comme il sera présenté en détail dans la section dédiée à notre modèle géométrique, cette structure sous forme de rosette a inspiré notre travail et a été utilisée pour former les boucles de chromatine dans notre géométrie.

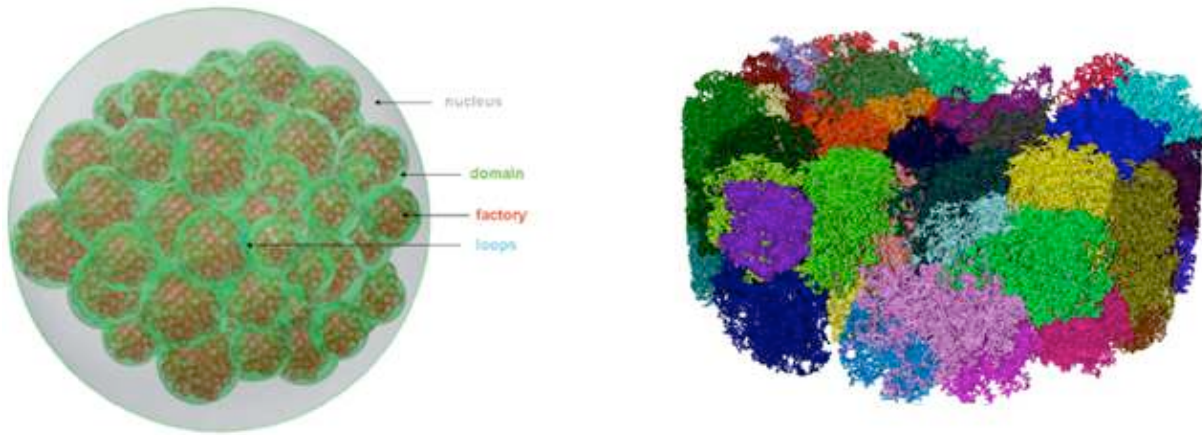


Figure III-3 : Noyaux cellulaires développés par Nikjoo et Girard [NIK11] (à gauche) et par Friedland et al [FRI11] (à droite).

Le modèle développé par Bernal et Liendo a tout d'abord été implémenté dans le code Monte Carlo Penelope [BER09, SAL06] de manière à évaluer les performances de celui-ci pour les calculs microdosimétriques. Ensuite ce modèle géométrique a été adapté de manière à pouvoir être utilisé dans Geant4, version 9.3-p01, pour calculer le nombre total de cassures de brins directes à partir de simulation de traces réalisées avec Geant4-DNA [BER11]. Dans ce modèle géométrique, 900 fragments de fibre de chromatine de 30 nm de diamètre sont arrangés de manière à former une enveloppe cylindrique ayant un diamètre central de 10 μm et une hauteur de 5,25 μm définissant ainsi la région d'intérêt pour les simulations Monte Carlo. Chaque fragment de chromatine contient 500 nucléosomes formés par une histone, deux torus représentant les bases de l'ADN autour duquel des secteurs sont attachés représentant quant à eux la région du squelette comme montré sur la figure III-4.

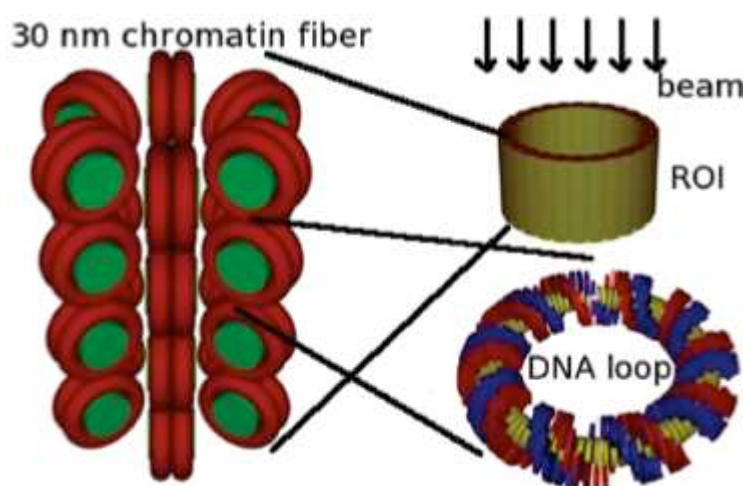


Figure III-4 : Géométrie implémentée par Bernal et al [BER11].

Bien que cette géométrie soit assez détaillée pour les calculs des dommages directs, seuls de petits morceaux de chromatine ont été implémentés dans le code, les niveaux de compaction supérieurs, à savoir les boucles de chromatine et les territoires chromosomiques, ne sont pas définis. De plus, le contenu d'un génome complet de cellule eucaryote n'est pas implémenté étant donné que cette géométrie contient $5,8 \cdot 10^8$ paires de base alors qu'un génome complet en contient $\sim 6 \cdot 10^9$ dans un volume équivalent.

Dans le cadre de ce travail de thèse, la description du génome complet contenu dans un noyau de cellule humaine était nécessaire. Bien que les modèles géométriques cités plus haut soient adaptés aux calculs des dommages radio-induits, de la même manière que les codes de calcul, ils sont difficiles d'accès par les utilisateurs et sont souvent conçus pour des applications spécifiques choisies par le groupe de travail qui les a conçues et peuvent donc limiter les domaines d'application. C'est donc pour cette raison que nous avons implémenté un nouveau modèle géométrique décrivant le contenu en ADN total de deux noyaux cellulaires, un endothélium et un fibroblaste, en phase G0/G1 du cycle cellulaire. Nous reviendrons en détail sur ces noyaux et le choix de la phase du cycle cellulaire dans la section III.3.

III.2 La géométrie dans Geant4

Le modèle géométrique développé dans ce travail est implémenté dans le fichier `DetectorConstruction.cc` nécessaire à la simulation Monte Carlo avec Geant4.

Dans ce fichier, la géométrie de la cible est décrite à l'aide d'une sémantique propre au code qui traduit l'utilisation de fonctions et variables définies dans le module géométrique de Geant4 permettant non seulement de décrire la structure géométrique de la cible mais également de propager efficacement les particules au sein de cette géométrie.

Pour décrire les propriétés d'un volume complet dans Geant4 trois concepts sont nécessaires : le concept de volume solide, le concept de volume logique et le concept de volume physique.

III.2.1 Le volume solide

Le volume solide correspond au volume géométrique. C'est dans ce volume que l'on décrit la forme et les dimensions de l'objet que l'on souhaite créer. Plusieurs types de solides sont disponibles dans Geant4 de manière à ce que ceux-ci puissent être adaptés à différents objectifs d'étude, domaines

d'application et complexité requise pour la simulation. Ces volumes sont les volumes CSG (Constructive Solid Geometry) et BREPs (Boundary Representations).

Les volumes BREPs permettent de gérer des volumes dont la topologie est plus étendue et donc de gérer des volumes plus complexes que les volumes CSG. Ces solides sont définis à partir de leurs frontières. Néanmoins, pour l'implémentation de notre géométrie, nous ne les avons pas utilisés. En effet, bien que la géométrie de l'ADN soit complexe, nous verrons qu'il a été plus simple d'utiliser des solides déjà prédéfinis dans Geant4, les volumes CSG, que nous avons assemblés de différentes manières, grâce aux opérations booléennes, de manière à obtenir la géométrie souhaitée.

En effet, les volumes CSG sont les volumes de base, déjà prédéfinis dans le code Geant4, par conséquent plus faciles à utiliser. En général ils donnent de meilleures performances mais ne permettent pas de représenter des solides complexes. Sur la figure III-5, quelques solides de ce type utilisés dans le cadre de ce travail pour implémenter notre géométrie sont reportés. Pour les utiliser il est donc uniquement nécessaire de définir leurs dimensions et composition.

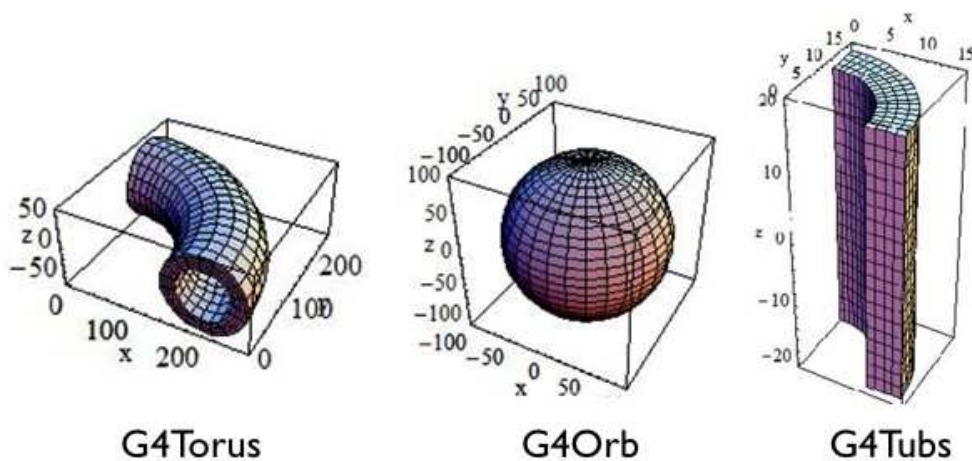


Figure III-5 : Solides type utilisés pour l'implémentation de la géométrie [GEA11].

Ces solides peuvent également être combinés en utilisant des opérations booléennes. Trois types d'opérations sont possibles dans Geant4 : G4UnionSolid, G4SubstractionSolid et G4InteractionSolid comme illustré sur la figure III-6. Pour créer un solide de ce type deux conditions doivent être remplies : avoir deux solides et choisir une opération booléenne. En option, des transformations comme une rotation ou une translation, sont possibles pour le second solide. Le second solide sera positionné par rapport au premier et le résultat d'une opération booléenne conduit à la formation d'un seul solide.

Ainsi, pour la définition de notre géométrie d'ADN au sein de Geant4, c'est donc la combinaison des volumes CSG et des opérations booléennes que nous avons utilisée.

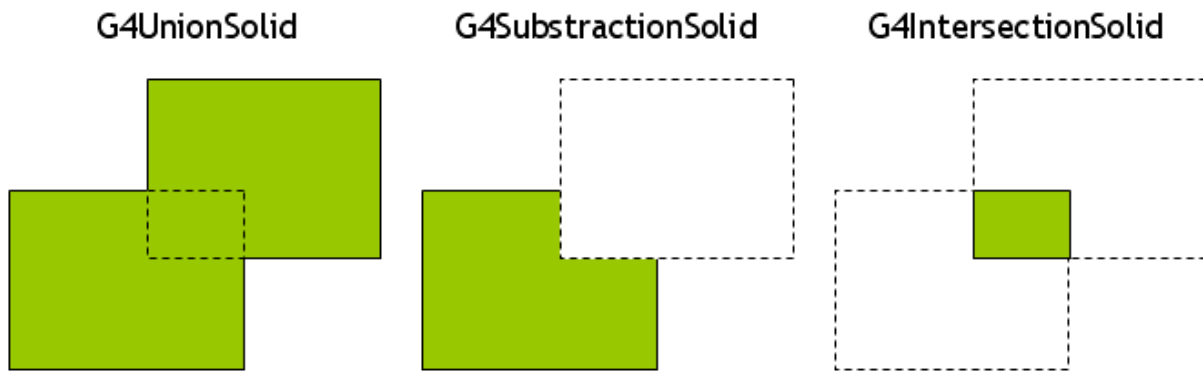


Figure III-6 : Opérations booléennes possibles dans Geant4 : union, soustraction et intersection de solides.

III.2.2 Le volume logique

Un volume logique représente un détecteur ayant une certaine forme, pouvant contenir également d'autres volumes à l'intérieur. Ce volume contient toutes les informations sur la géométrie excepté la position et les rotations s'il y en a. Ce volume contient donc les informations sur la forme, les dimensions du solide (G4VSolid) et le matériau qui le compose (dans notre cas l'eau liquide (G4WaterMaterial)). Il gère également les informations relatives à la visualisation (G4VisAttibuts) et les paramètres définis par l'utilisateur pour le suivi des particules ou encore les limites d'utilisation (G4UserLimits : seuil en énergie par exemple).

Il est également possible de définir des régions contenant des volumes de type logique pour lesquels, lors du transport de particules dans la géométrie, des seuils de production de particules secondaires ou des modèles physiques spécifiques pourront être définis spécifiquement pour ces régions à la différence du reste de la géométrie cible. Ainsi, il sera possible de choisir une région (par exemple le noyau cellulaire), dans lequel les processus Geant4-DNA seront utilisés tandis qu'à l'extérieur de celui-ci ce seront les autres processus qui seront définis pour la simulation.

III.2.3 Le volume physique

Enfin, le volume physique résulte du positionnement du volume logique, dans un repère absolu pour la modélisation, à l'aide de la fonction G4PVPlacement. Un volume logique peut être placé soit au sein du volume global de la simulation (monde ou « World ») soit à l'intérieur d'un autre volume logique appelé dans ce cas le volume mère (le volume contenu s'appelle donc volume « fille »). Les rotations ou autres opérations qui peuvent être appliquées à un volume sont également spécifiées dans le volume physique. Ainsi, une hiérarchisation des volumes est construite, chaque volume peut contenir des volumes plus petits qui ne peuvent se chevaucher. Il est également important de noter

que, s'il existe des volumes avec les mêmes caractéristiques, placés en différents points de la géométrie, un seul volume logique peut être créé et les différents volumes physiques pourront partager le même volume logique.

D'autres options permettant des placements plus complexes sont également disponibles telles que `G4ReflectionFactory` et `G4AssemblyVolume`. En plus de cette option qui permet le placement d'un solide dans un autre, il est possible de répéter un grand nombre de fois un solide grâce à des options de répétition comme `G4PVReplica`, `G4PVParameterised` ou `G4PVDivision`. Ces volumes deviennent alors des volumes répétés et un seul volume physique peut représenter un grand nombre de volumes réels.

Dans le cadre de ce travail c'est essentiellement la paramétrisation qui a été utilisée, car, la réplication et la division de volumes ne permettent que de répéter un solide le long d'un axe. Par conséquent, avec ces deux dernières options, il n'est pas possible de placer des solides dans toutes les directions et les positions que l'on souhaite.

La paramétrisation consiste à répéter un volume un grand nombre de fois, dans n'importe quelle position. Cette option permet de réduire considérablement la mémoire utilisée et le temps de calcul si la géométrie implémentée contient un grand nombre de volumes, ce qui est le cas dans notre travail. En effet, nous verrons dans la section 3.3 que, pour implémenter le génome complet d'une cellule, il a été nécessaire d'implémenter un grand très nombre de boucles de chromatine, contenant chacune un très grand nombre de nucléosomes, c'est donc les boucles de chromatine que nous avons choisies de paramétrer.

Pour cela il est nécessaire d'implémenter une classe à part (`Parametrisation`) qui sera ensuite appelée dans le `DetectorConstruction`. Cette classe contient les informations sur le volume solide (forme) ainsi que les positions et les rotations de ceux-ci. Dans notre cas, les informations sur les positions et les rotations pour les boucles contenues dans chaque territoire chromosomique sont stockées dans un fichier texte et seront ensuite lues par le `DetectorConstruction`.

Sur la figure III-7 reporte les différentes étapes nécessaires à la création d'une géométrie dans Geant4 ainsi que quelques exemples de classes et fonctions qui peuvent être utilisées par les différents types de volumes :

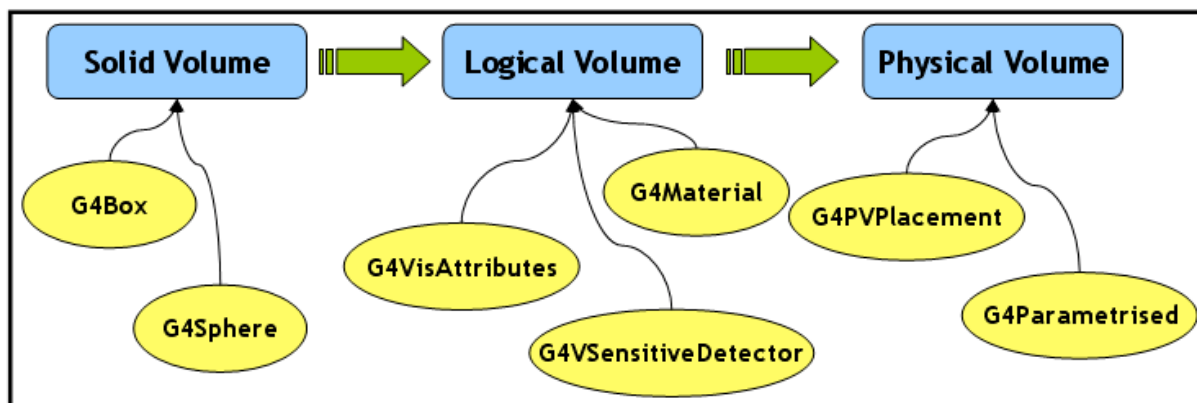


Figure III-7 : Etapes nécessaires à la définition d'un volume géométrique dans le fichier DetectorConstruction.cc.

III.3 Implémentation de la géométrie développée au cours de ce travail

Dans le cadre de ce travail, deux types de noyaux cellulaires ont été implémentés de manière à évaluer l'influence de la densité de la chromatine sur les résultats des modélisations réalisées avec différents types de rayonnements.

Les deux types de noyaux ont été choisis en collaboration avec l'équipe de radiobiologistes du Laboratoire de Dosimétrie Biologique (LDB) de l'IRSN qui travaille également au sein de l'axe 1 du projet ROSIRIS. Les noyaux cellulaires choisis sont des noyaux de fibroblaste et d'endothélium. Grâce aux résultats du LDB, nous avons pu avoir accès à la morphologie et aux dimensions de ces noyaux cellulaires afin de pouvoir définir au mieux notre géométrie dans Geant4 pour les objectifs du programme de recherche.

La phase du cycle cellulaire a également été choisie en collaboration avec cette équipe. Les noyaux cellulaires implémentés se trouvent en phase G0/G1. Cette phase spécifique du cycle cellulaire correspond à un état de repos de la cellule c'est-à-dire qu'elle a stoppé ses activités de prolifération. Pendant cette phase la densité d'ADN dans le noyau est à peu près constante, tandis que pendant les autres phases du cycle la densité d'ADN varie au sein des territoires chromosomiques. Le choix de cette phase particulière du cycle cellulaire permet également la comparaison entre les résultats de nos simulations à des données expérimentales sur le nombre de DSB détectées par la technique d'immunofluorescence gamma-H2AX présentée dans le chapitre I. En effet, comme vu en introduction et au chapitre I, ce travail fait partie d'un projet de recherche plus vaste, ROSIRIS, dont l'objectif est de trouver des corrélations entre le détail des dépôts d'énergie obtenu par différents types de rayonnements et le nombre de DSB détectés par immunofluorescence γ -H2AX sur une large population de cellules. Pour ce faire, et de manière à obtenir une valeur correcte du nombre de foci radio-induits, les cellules doivent être irradiées dans cette phase spécifique du cycle. En effet, pendant les autres phases du cycle cellulaire et

notamment pendant la division cellulaire, l'ADN peut se rompre en différents endroits et conduire à la formation de DSB. Ces DSB pourront, comme les DSB liés aux passages des rayonnements ionisants, être détectés sous forme de foci lors des expériences de radiobiologie. Il n'est alors pas possible de différencier un foci résultant du passage d'un rayonnement ionisant d'un foci résultant de la rupture spontanée des brins de l'ADN, c'est ce que l'on appelle le « bruit de foci ». Ainsi, la phase G0/G1 est la meilleure phase du cycle cellulaire pour pallier ce problème, car, en ayant stoppé ces activités de prolifération, le « bruit de foci » est le plus faible et on peut alors obtenir une valeur correcte du nombre de foci radio-induits.

Le modèle géométrique de la molécule d'ADN que nous avons implémenté est le même pour les deux noyaux cellulaires et il est divisé en cinq niveaux de compaction inspirés du modèle développé par W. Friedland et al. [FRI03] pour une ancienne version du code PARTRAC, tel qu'expliqué en III.1. Ces cinq niveaux sont : la double hélice de l'ADN (groupe sucre / phosphate et bases), le nucléosome, la fibre de chromatine, les boucles de chromatine et les territoires chromosomiques. La géométrie de chacun des éléments que nous avons implémentés est détaillée dans les sections qui suivent.

III.3.1 Les différents éléments composants la géométrie

III.3.1.1 Le nucléosome

Comme vu au chapitre 1, un nucléosome est constitué d'un assemblage de protéines appelé histone autour duquel s'enroule la double hélice de l'ADN.

Dans notre géométrie, l'histone est représentée par un cylindre de 6,5 nm de diamètre et 5,7 nm de hauteur de la même manière que dans la géométrie développée par Michalik et Begusova présentée dans la première section de ce chapitre [MIC94]. Autour de celui-ci 200 paires de bases de l'ADN s'enroulent afin de former la double hélice de l'ADN. Dans cette double hélice, les bases et le squelette (groupe sucre / phosphate) sont différenciés afin de pouvoir prendre en compte si nécessaire les dépôts d'énergie localisés dans ces différents volumes.

Sur la figure III-8 l'image du nucléosome implémenté est montrée. La double hélice blanche et rouge représente les parties correspondantes aux sucres et aux phosphates qui ont été obtenues à partir d'unification de sphères. A l'intérieur de chacun des brins, les bases de l'ADN sont implémentées à partir de sphères de 0,34 nm de diamètre.

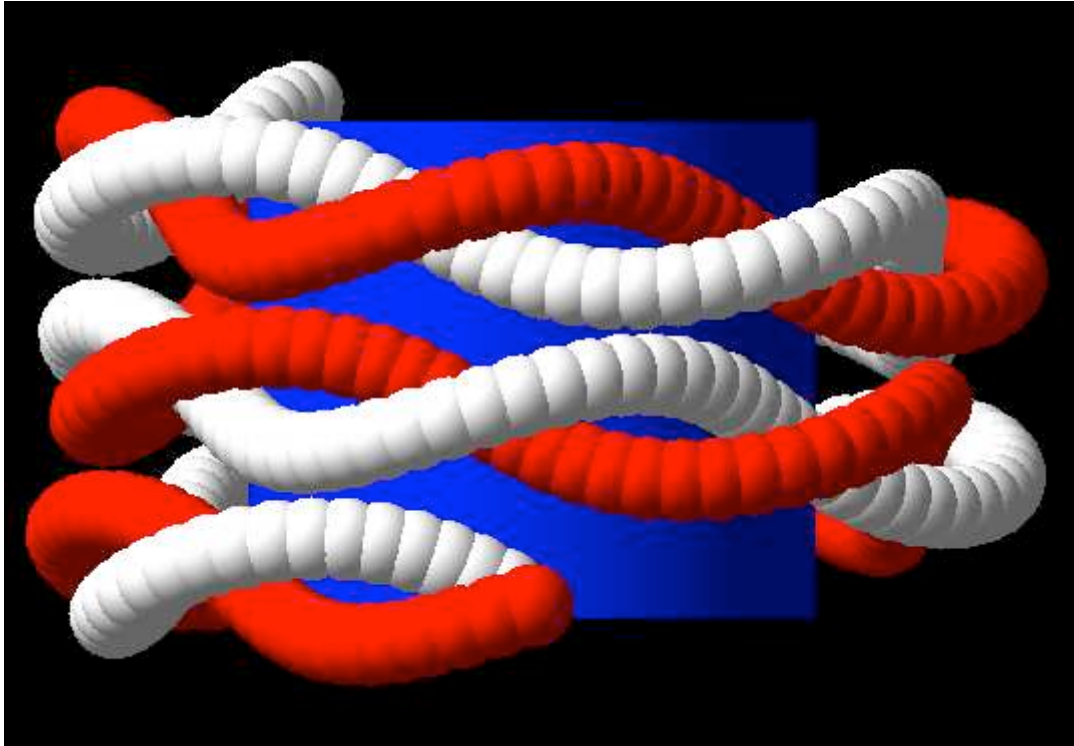


Figure III-8 : Représentation d'un nucléosome. Le cylindre bleu correspond à l'histone et les brins rouge et blanc à la molécule d'ADN à l'intérieur desquels les bases de l'ADN sont implémentées.

Au final nous obtenons une double hélice d'ADN ayant un diamètre de 2,16 nm, en accord avec les autres modèles géométriques de l'ADN présentés dans la section III.1 ainsi que des données biologiques issues de la littérature sur la morphologie de l'ADN [DIC82]. Le volume occupé par le squelette (sucre / phosphate) est d'environ 96,75 nm³ et le volume occupé par les bases est de 8,23 nm³ soit un volume total d'ADN de 104,98 nm³ par nucléosome.

III.3.1.2 La fibre de chromatine

A partir du nucléosome comme élément de base, des bâtonnets de chromatine ont été construits. Pour cela, les nucléosomes ont été placés en hélice suivant un axe de manière à former un bâtonnet de chromatine contenant 90 nucléosomes soit environ 18 000 paires de bases. Les fibres de chromatine ainsi formées sont de forme solénoïde, d'une longueur de 161 nm, d'un diamètre de 31 nm et comportent 7 nucléosomes par tour.

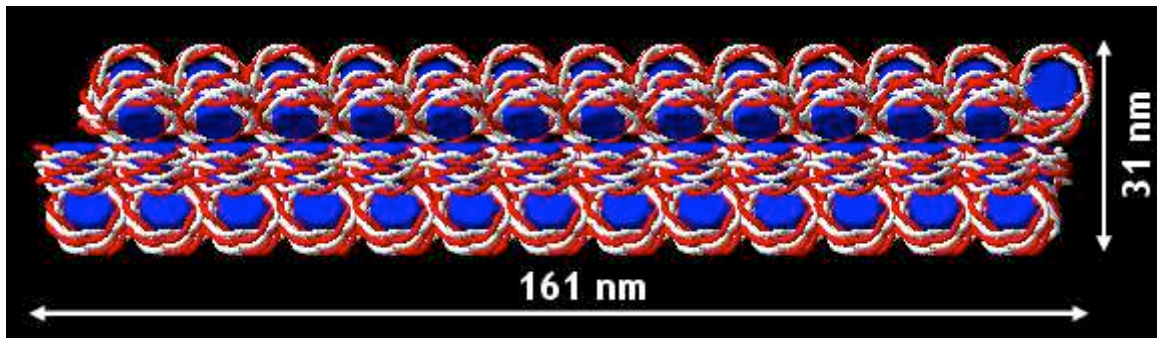


Figure III-9 : Fibre de chromatine de forme solénoïde contenant 90 nucléosomes.

Il est également important de noter que, autour de ces bâtonnets de chromatine, une région virtuelle a été définie de manière à pouvoir être utilisée lorsque les étapes physico-chimique et chimique seront disponibles dans Geant4-DNA. En effet, les dépôts d'énergie localisés aux alentours de la double hélice de l'ADN pourront engendrer des dommages à l'ADN lors de ces étapes grâce à la formation de radicaux libres. Ces dommages correspondent aux dommages dus aux effets indirects des rayonnements ionisants. Cette région a été définie de manière à prendre en compte l'ensemble des dépôts d'énergie situés à une distance maximale de 4 nm de l'ADN correspondant à la distance que les radicaux libres peuvent parcourir [NIK01]. Cette région virtuelle pourra ainsi servir à faire une première sélection géométrique des dépôts d'énergie pouvant contribuer à ces dommages indirects.

III.3.1.3 Les boucles de chromatine

En s'inspirant du modèle géométrique décrit par W. Friedland [FRI03], des boucles de chromatine ont ensuite été formées à l'aide de quatre bâtonnets de chromatine placés en forme de losange (boucle). Les boucles ainsi formées peuvent ensuite être utilisées pour former un degré de compaction supplémentaire : sept de ces boucles sont associées de manière à former une fleur de chromatine. Les « pétales ou boucles » de quatre bâtonnets contiennent alors 360 nucléosomes soit 72 kbp tandis que les fleurs complètes sont composées de 28 bâtonnets de chromatine, soit 2520 nucléosomes correspondant à environ 0,5 Mbp.

Les boucles et les fleurs de chromatine, représentées sur la figure III-10, vont être les éléments de base qui vont servir à remplir les territoires chromosomiques. En effet, chaque cellule est divisée en 46 territoires chromosomiques que nous avons définis par des régions cubiques de dimensions proportionnelles au nombre de paires de bases qui les composent en gardant ainsi la densité d'ADN constante au sein du noyau cellulaire. Ces territoires chromosomiques sont ensuite remplis de manière uniforme avec le nombre de boucles ou de fleurs nécessaires pour obtenir le bon nombre de paires de bases. Du fait de la différence de volume total entre les noyaux implémentés dans ce travail, les territoires chromosomiques de la cellule endothéliale ont été remplis avec les pétales

tandis que ceux de la cellule fibroblaste ont été remplis avec les fleurs qui nécessitent un volume plus grand.

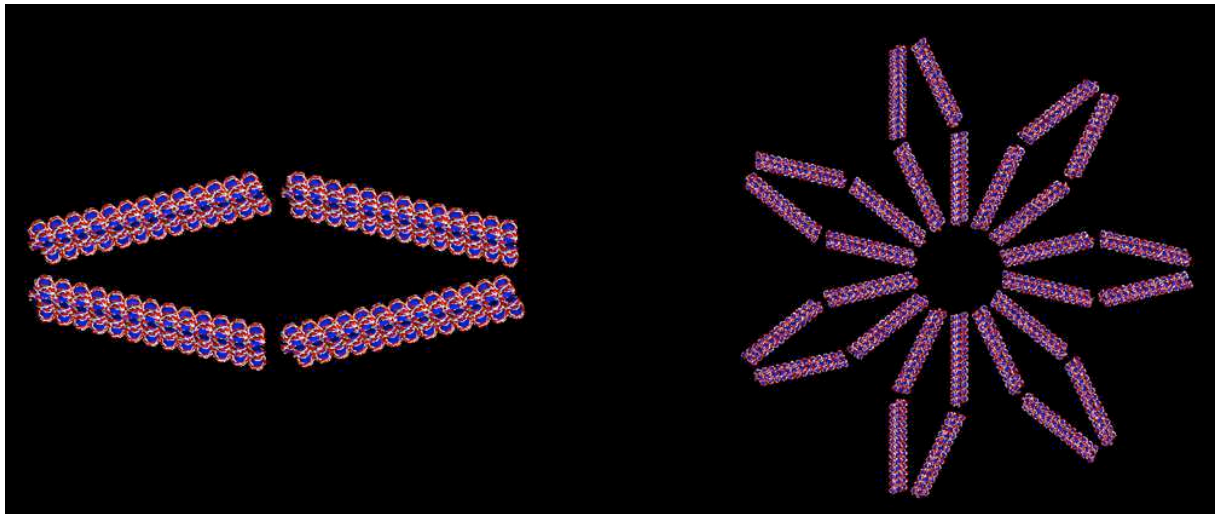


Figure III-10 : Boucle de chromatine formée de 4 bâtonnets de chromatine (à gauche) et fleur de chromatine composée de 7 boucles (à droite).

Comme mentionné plus haut, cette forme de boucle de chromatine (fleur) est inspirée d'un précédent modèle géométrique implémenté dans le code PARTRAC [FRI03]. Nous avons choisi d'utiliser des boucles de ce type car, les noyaux cellulaires étant composés d'un grand nombre de nucléosomes et donc par conséquent d'un grand nombre de bâtonnets de chromatine, il fallait utiliser un motif facilement répétable en différents points de l'espace pour que la géométrie soit gérée par Geant4. La répétition de ce motif a été réalisée en utilisant l'option « paramétrisation » qui a été décrite dans la section III.2.3.

III.3.2 Les noyaux cellulaires étudiés

Comme dit précédemment, deux types de noyaux cellulaires ont été implémentés : un noyau de cellule endothéliale et un noyau de cellule fibroblaste.

Les cellules endothéliales tapissent les vaisseaux sanguins, les vaisseaux lymphatiques et l'intérieur des cavités cardiaques. Ces cellules sont constitutives de l'endothélium et ont une forme très aplatie (1 ou 2 μm d'épaisseur), c'est ce qui va constituer une grande différence morphologique par rapport aux cellules fibroblastes.

En effet, les cellules fibroblastes, cellules fusiformes, sont des cellules ayant une forme allongée et se terminant en pointe aux extrémités d'environ 5 μm d'épaisseur. Ce sont des cellules présentes dans le tissu conjonctif, comme le derme de la peau ou la paroi des veines et des artères par

exemple. Les fibroblastes jouent un rôle important dans la réparation des lésions traumatiques, inflammatoires ou autres car, en devenant mobiles, elles permettent la cicatrisation des plaies.

Pour représenter ces deux types cellulaires, les noyaux implémentés sont de forme ellipsoïdale et les dimensions des demi-axes de chacune d'elles sont $9,85\ \mu\text{m}$, $7,1\ \mu\text{m}$ et $2,5\ \mu\text{m}$ pour le noyau de fibroblaste ($V = 732\ \mu\text{m}^3$) et $9,5\ \mu\text{m}$, $5,5\ \mu\text{m}$ et $1\ \mu\text{m}$ pour le noyau de l'endothélium ($V = 219\ \mu\text{m}^3$). Le noyau du fibroblaste est donc plus volumineux que celui de l'endothélium, par conséquent, la principale différence entre les deux noyaux cellulaires est le volume occupé par la molécule d'ADN dans chacun d'eux. En effet, le noyau du fibroblaste est trois fois plus grand que celui de l'endothélium alors que la quantité d'ADN est la même. L'ADN va donc être plus compacté dans le noyau de l'endothélium. Au final et après implémentation de notre modèle géométrique, 0,42 % du volume total du noyau du fibroblaste est occupé par la molécule d'ADN (volume de la zone définie comme squelette + bases par rapport au volume total du noyau) tandis qu'il est de 1,43 % dans le cas de l'endothélium.

Au sein de chaque noyau, les territoires chromosomiques sont représentés par des boîtes cubiques qui contiennent les boucles ou les fleurs définies dans la section III.3.1.3, comme représenté sur la figure III-11. Chaque territoire chromosomique a un volume proportionnel au nombre de paires de bases qui le composent.

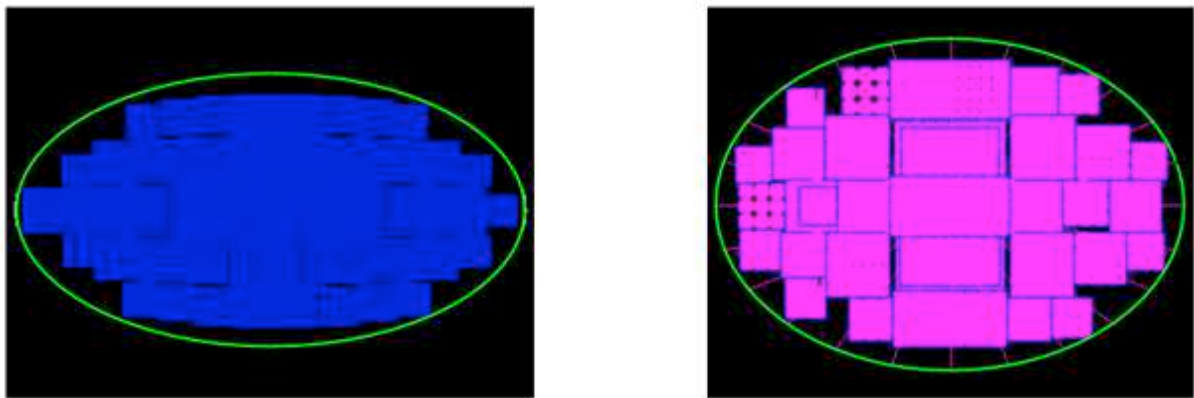


Figure III-11 : Noyau de la cellule endothéliale (à gauche) et de la cellule fibroblaste (à droite).
Chaque noyau est divisé en 46 territoires chromosomiques de forme cubique, remplis avec des boucles pour l'endothélium et des fleurs pour le fibroblaste.

Dans le tableau III-1, nous avons reporté les nombres de boucles ou de fleurs composant chaque territoire chromosomique en fonction du type cellulaire ainsi que du volume et des dimensions de chacun des territoires. Etant donné que les territoires chromosomiques sont de forme cubique, dans le tableau c'est la longueur de l'arête du cube que nous avons reportée dans la colonne d_{cube} .

Tableau III-1 : Récapitulatif de la composition des territoires chromosomiques dans les deux noyaux cellulaires.

Chromosomes	ENDOTHELIUM			FIBROBLASTE		
	Nombre de boucles	V _{chromo} (μm^3)	d _{cube} (μm)	Nombre de fleurs	V _{chromo} (μm^3)	d _{cube} (μm)
1	3430	8,99	2,08	490	30,22	3,11
2	3402	8,87	2,07	486	29,97	3,11
3	2793	7,41	1,95	399	24,61	2,91
4	2681	7,08	1,92	383	23,62	2,87
5	2527	6,64	1,88	361	22,26	2,81
6	2387	6,33	1,85	341	21,03	2,76
7	2219	5,83	1,80	317	19,55	2,69
8	2044	5,36	1,75	292	18,00	2,62
9	1883	5,00	1,71	269	16,59	2,55
10	1897	5,00	1,71	271	16,71	2,56
11	1890	5,00	1,71	270	16,65	2,55
12	1869	4,91	1,70	267	16,47	2,54
13	1596	4,17	1,61	228	14,06	2,41
14	1477	3,87	1,57	211	13,01	2,35
15	1400	3,72	1,55	200	12,33	2,31
16	1260	3,31	1,49	180	11,10	2,23
17	1148	3,05	1,45	164	10,11	2,16
18	1092	2,86	1,42	156	9,62	2,13
19	896	2,35	1,33	128	7,89	1,99
20	896	2,35	1,33	128	7,89	1,99
21	658	1,73	1,20	94	5,80	1,77
22	693	1,82	1,22	99	6,11	1,83
X	2135	5,64	1,78	305	18,81	2,66
Y	714	1,86	1,23	102	6,29	1,84
Noyau total	83125	~ 219		11785	~ 732	

Au final, des noyaux cellulaires composés de 46 territoires chromosomiques, 22 paires de chromosomes homologues (autosomes) et une paire de chromosome sexuel (gonosomes), 83 125 boucles de chromatine ou 11 785 « fleurs », 332 500 bâtonnets de fibre de chromatine de 161 nm, 29 925 000 de nucléosomes correspondant à environ 6 Gbp ont été obtenus.

En guise de résumé, la figure III-12 reporte les différents niveaux de compaction utilisés dans ce modèle géométrique de l'ADN cellulaire qui constituera la cible de nos simulations Monte Carlo réalisées avec le code Geant4.

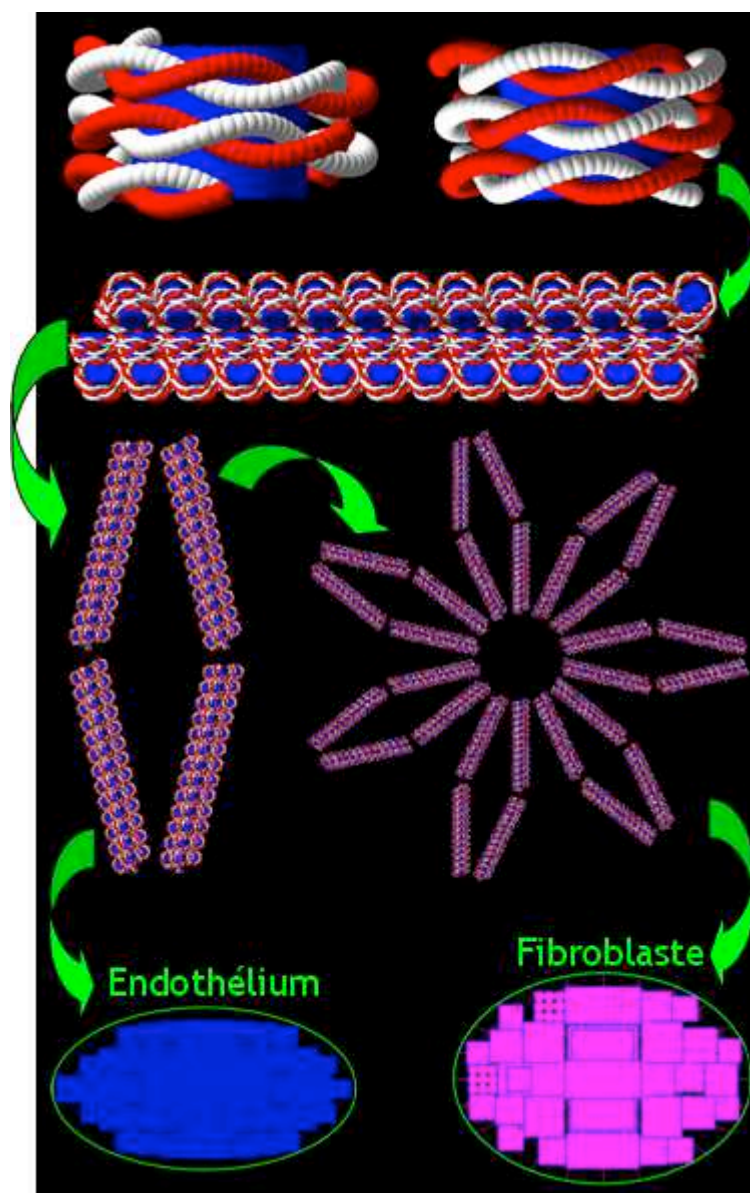


Figure III-12 : Différents niveaux de compaction de l'ADN et son organisation dans les noyaux cellulaires.

III.3.3 Hétérochromatine et euchromatine

Au sein des deux noyaux cellulaires que nous avons implémentés, les fibres de chromatine et donc par conséquent les boucles et les fleurs ont été positionnés de manière à remplir de façon homogène l'intégralité du volume des noyaux. Néanmoins, dans les conditions réelles, bien que les cellules soient fixées dans une phase précise du cycle cellulaire, différentes formes de la

chromatine peuvent coexister au sein du noyau : les fibres de chromatine et le nucléo-filament correspondant respectivement aux régions hétérochromatinienne et euchromatinienne.

De manière à prendre en compte l'influence de ce paramètre, mais, néanmoins sans réellement concevoir un modèle d'euchromatine qui aurait dépassé largement le cadre de ce travail, nous avons voulu quantifier l'impact d'une décondensation des fibres de chromatine sur les résultats des simulations. Ainsi, nous avons comparé les résultats obtenus à partir des traces de différents projectiles (protons et alphas de différentes énergies) au sein d'un territoire chromosomique du noyau de fibroblaste décrit précédemment avec ceux obtenus dans le même territoire chromosomique (même taille de la boîte cubique et même nombre de paires de bases à l'intérieur) mais en déliant tous les nucléosomes (cf. chapitre IV.6). C'est-à-dire, dans ce deuxième territoire, c'est uniquement l'élément de base de la géométrie (niveau de compaction 1) qui est utilisé pour remplir le volume. La position de chaque nucléosome est choisie aléatoirement comme montré sur la figure III-13. Les résultats de ces simulations sont présentés dans la chapitre IV.

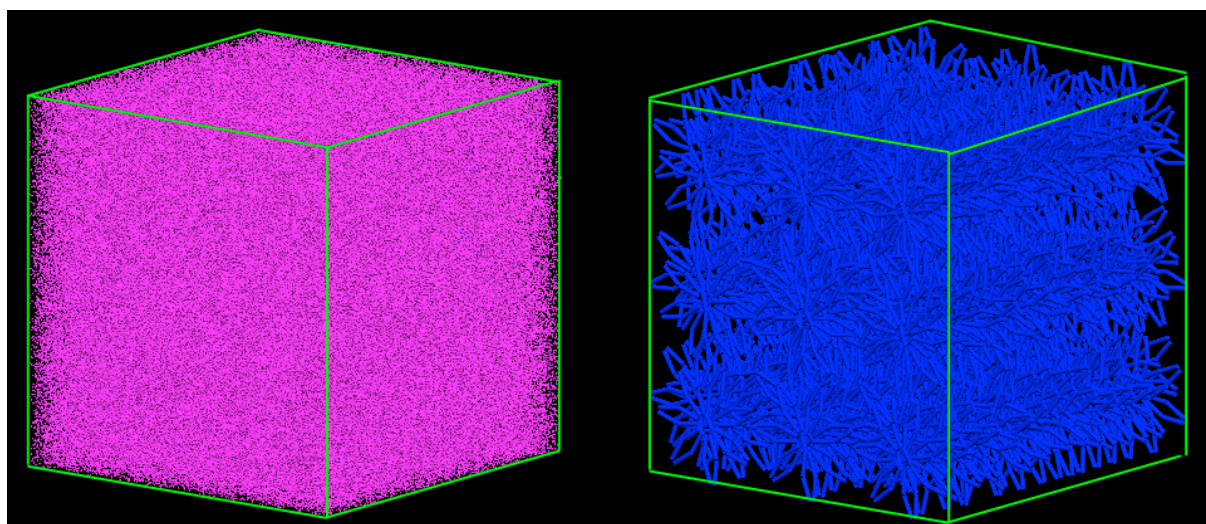


Figure III-13 : Territoire chromosomique identique du noyau de fibroblaste mais rempli soit avec des nucléosomes placés de manière aléatoire (décondensée) soit avec des boucles de chromatine (condensée).

III.4 Le traitement des données : DBSCAN

De nos jours, les algorithmes de clusterisation sont devenus une technique de plus en plus utilisée, dans de nombreux domaines d'activité (informatique, télécommunication), car ils permettent d'analyser de grandes quantités de données. Dans le cadre de ce travail, l'utilisation d'un algorithme de clusterisation est un atout majeur car il va nous permettre, d'une part, de mettre en évidence les dépôts d'énergie pouvant appartenir à un même groupe (cluster) et, d'autre part, de mettre en évidence les liens qui pourraient exister entre ces dépôts d'énergie. Ainsi, il sera possible

d'évaluer si ces dommages pourraient contribuer aux cassures de brin de l'ADN (simple ou double) ou encore aux dommages de base.

Grâce aux simulations réalisées avec Geant4-DNA, nous avons pu obtenir les traces des particules à l'intérieur du volume cible que nous souhaitons étudier. Ainsi, ce sont les dépôts d'énergie localisés dans la région sucre / phosphate (squelette) qui sont pris en compte et analysés avec l'algorithme de clusterisation afin de déterminer des groupes de dépôts d'énergie pouvant être à l'origine de cassures simples ou doubles de l'ADN résultant d'un effet direct des rayonnements ionisants sur la molécule. En effet, étant donné que la modélisation de l'étape chimique n'était pas encore disponible durant la réalisation de ce travail, seule la localisation des dépôts directs peut être prise en compte pour le moment.

Pour réaliser cette analyse, les informations nécessaires provenant de la trace physique sont donc uniquement : les coordonnées des différents points de transfert de la trace, le volume correspondant dans la géométrie (pour identifier les brins opposés) et la quantification de l'énergie du dépôt.

Il faut également remarquer que, dans les résultats des calculs qui seront présentés au chapitre IV, les dépôts correspondants à différentes traces ont été traités séparément. Ce traitement revient à considérer les traces indépendantes dans l'espace et le temps et donc à considérer que l'on travaille avec des faibles débits de dose, ce qui est le cas dans les expériences en radiobiologie qui sont effectuées dans ce projet de recherche. En effet, la condition de faible débit de dose est importante car la technique choisie pour la détection des cassures double brins de l'ADN (gamma-H2AX) sature pour des doses de plus de 2-3 Gy qui doivent être reçues par la cellule en un temps de quelques 5 minutes afin de maintenir la confluence des cellules dans la phase G0 de leur cycle. Ainsi, le traitement des traces de manière indépendante dans ce projet est justifié. Néanmoins, de manière à évaluer l'effet du « mélange » des traces avec la dose, une étude concernant l'influence de ce paramètre sur le nombre de dommages créés a été réalisée et ces résultats seront présentés au chapitre IV dans la section IV.3.

III.4.1 Le choix de l'algorithme

De nombreuses méthodes ont été proposées permettant de traiter des données et parmi celles-ci il est possible de distinguer trois grandes familles de « clustering » :

- le clustering hiérarchique : formation d'une hiérarchie de clusters, c'est-à-dire que plus on va descendre dans la hiérarchie plus les clusters vont être semblables ;
- le clustering par partition : formation d'une partition de l'espace des objets, selon une certaine fonction critère, chaque partition représentant alors un cluster dans cette famille.

Les algorithmes tels que K-means [HAR79], BIRCH [ZHA96] ou encore CLARANS [NG94] reposent sur cette méthode et permettent de traiter des données en 2 et 3 dimensions ;

- le clustering par densité : regroupement des objets en classe tant que la densité excède une certaine limite fixée par l'utilisateur.

Dans le cadre du projet ROSIRIS, l'algorithme K-means a tout d'abord été testé pour le traitement des données. Bien que cet algorithme regroupe les points en utilisant la règle de distance minimale, celui-ci a montré ses faiblesses car la direction de la particule primaire était l'un des paramètres indispensable à connaître pour obtenir les résultats des clusters, ce qui ne pourra pas être toujours le cas lors des expériences de radiobiologie. Ainsi, nous avons décidé d'utiliser un autre algorithme de clusterisation, plus robuste, DBSCAN, basé sur le clustering par densité [EST96] (Density Based Spatial Clustering of Applications with Noise). Le choix de cet algorithme s'est également fait d'un point de vue pratique car les paramètres qui lui sont nécessaires en entrée peuvent en quelque sorte être reliés à des paramètres biologiques. Par exemple, la distance entre les points peut être reliée à la distance entre les cassures de brins de l'ADN. De plus, cet algorithme possède deux atouts majeurs : sa très grande efficacité au niveau du temps de calcul et sa convergence permettant de mettre en évidence des clusters de forme arbitraire.

III.4.2 DBSCAN [EST96]

DBSCAN est un algorithme de clusterisation qui permet de regrouper des objets d'une base de données en sous-groupes significatifs. Cet algorithme qui intègre une notion de cluster basé sur la densité permet de découvrir des clusters de forme arbitraire et les distinguer du « bruit » dans une base de données spatiale.

Avant de définir le principe de base de DBSCAN, il est important de parler de la notion de densité. Si l'on regarde la figure III-14, nous pouvons facilement détecter les points appartenant à un même groupe (cluster). Les points n'appartenant à aucun cluster sont dits non significatifs, on parle alors de bruit. La raison qui nous permet de savoir si un point appartient à un cluster ou non est que la densité des zones de « bruit » est inférieure à celle des clusters.

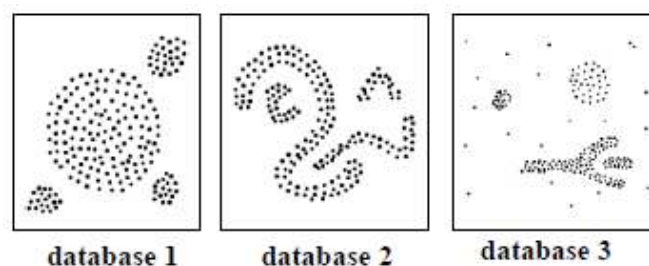


Figure III-14 : Une idée intuitive de la densité [EST96].

L'idée clé de la clusterisation basée sur la densité est que pour chaque point d'un cluster, ses environs pour un rayon donné dénommé RMS (Root Mean Square) doivent contenir un nombre de points minimum dénommé MinPts. Ainsi, cet algorithme ne requiert la définition que de deux paramètres pour réaliser une clusterisation : le nombre de points minimum pour former le cluster et le rayon du voisinage à étudier.

Une fois ces paramètres définis, pour identifier un cluster, DBSCAN commence par un point arbitraire p et recherche tous les points de densité accessible à partir de p . Si p est un point central, p est ajouté au cluster. Si p est un point de bordure alors aucun point n'est atteignable à partir de p et l'algorithme visitera le prochain point de la base de données.

Grâce aux deux paramètres (RMS et MinPts), DBSCAN peut fusionner deux clusters si deux clusters de densités différentes sont assez proches l'un de l'autre. Deux ensembles de points, ayant au moins la plus faible densité, seront séparés si la distance entre les deux est supérieure au RMS. En conséquence un appel récursif de DBSCAN peut être nécessaire pour les clusters présentant les plus grandes densités.

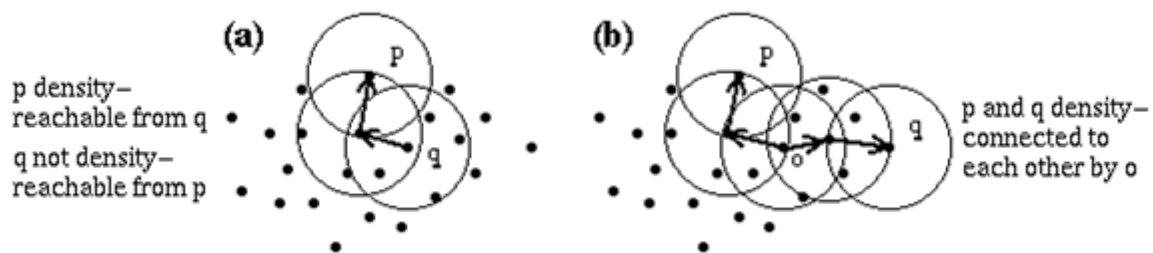


Figure III-15 : Principe de la clusterisation avec DBSCAN [WEB01].

III.4.3 Utilisation de DBSCAN

L'algorithme DBSCAN a, dans un premier temps, été utilisé de manière à pouvoir calculer un nombre absolu de dommages précoces (cassures simple et double brin) dus aux effets directs et indirects des rayonnements [FRA11]. Dans le cadre de ce précédent travail mené au laboratoire [FRA11], les traces des particules étaient simulées dans un volume homogène rempli d'eau et donc, par conséquent, sans aucune géométrie de l'ADN. A partir de là, seule une fraction des dépôts d'énergie obtenus, 16 % choisi aléatoirement (SPointsProb), correspondant aux dépôts pouvant être localisés dans des régions dites sensibles (ADN), était sélectionnée pour être traitée avec l'algorithme. Une fonction de probabilité linéaire entre 5 et 37,5 eV a également été définie [FRI03]. Les dépôts d'énergie en dessous de 5 eV n'ont aucune probabilité de créer des dommages, puis cette probabilité augmente jusqu'à 1 à 37,5 eV. Ensuite, de manière à pouvoir différencier les dommages (DSB ou SSB), les points de transferts sélectionnés étaient répartis en deux groupes

équiprobables correspondant à chacun des brins de l'ADN. L'algorithme parcourt ensuite l'ensemble de ces SSBs sélectionnées et teste les distances entre elles. Si deux SSBs sont assez proches, elles forment un cluster. Les clusters contenant deux SSBs ou plus et dont au moins l'une d'entre elle est localisée sur le brin opposé forme une DSB. Ainsi, deux paramètres sont nécessaires pour cette étape : la définition du nombre de points minimum pour former un cluster (MinPts) et la distance maximale entre ces points (RMS). En radiobiologie, deux SSBs sont considérées comme formant une DSB si elles sont situées dans des brins différents et séparées par moins de 10 paires de bases, soit environ 3,2 nm. Si des clusters sont assez proches, ils pourront fusionner à condition que la distance entre leurs centres soit inférieure à 3,2 nm. Les dépôts d'énergie situés à plus 3,2 nm de tout autre point correspondent au « bruit » et sont considérés comme des SSBs simples. Au final, cette clusterisation sans géométrie d'ADN nécessite la définition de six paramètres par l'utilisateur qui sont : SPointsProb, MinPts, RMS, l'énergie minimale du cluster, l'énergie minimale de chaque dépôt d'énergie et la fonction de probabilité linéaire, et ne tient pas compte de la répartition non uniforme des points se trouvant dans des sites sensibles.

Dans ce travail de thèse, grâce à l'implémentation de notre géométrie, il est possible de sélectionner les dépôts d'énergie localisés dans la région de l'ADN d'intérêt et donc de surmonter la difficulté liée à la détermination des dépôts d'énergie localisés dans des régions dites « sensibles » et pouvant contribuer aux cassures de brin de l'ADN (SPointsProb). Ici, l'algorithme de clusterisation va parcourir tous les dépôts d'énergie localisés dans la région sucre / phosphate (squelette) résultant des interactions inélastiques et seuls les dommages directs sont pris en compte dans le cadre de ce travail. A partir de là, pour réaliser la clusterisation, seulement trois paramètres doivent être nécessairement définis :




- un minimum de deux points pour former un cluster (MinPts) ;
- un rayon maximal de 3,2 nm ce qui correspond à la distance séparant 10 paires de bases (RMS) ;
- une énergie minimale de 8 eV pour les dépôts d'énergie (ionisation + excitation).

Dans le cadre de ce travail, il est important de mettre en évidence le fait qu'aucune coupure en énergie n'a été effectuée. En effet, dans d'autres travaux [NIK97, NIK01, NIK11], une énergie minimale de 17,5 eV est requise pour pouvoir induire une cassure de brin. Dans le cas du code PARTRAC [FRI03, FRI11], une fonction de probabilité linéaire entre 5 et 37,5 eV est utilisée comme condition sur l'énergie. Ces paramètres en énergie ont été choisis en vue du nombre de cassures par gray et par cellule envisagées lors d'irradiations à faible TEL (Cobalt 60 ou alors rayons X de 220 keV). Ils ont été déterminés sur la base d'un rendement total de 1000 cassures par gray et par cellule [LJU91] et d'un ratio de 35 : 65 entre les effets directs et indirects [MIC00, FRI11].

Concernant ce travail, dans l'état actuel de la simulation, où seule la trace physique peut être simulée, il n'est pas possible de déterminer un nombre absolu de cassures simple ou double brin qui pourrait être validé par des expériences de radiobiologie ou d'autres données calculées. L'objectif de cette étude est d'évaluer la dépendance relative des dommages radio-induits de l'ADN en fonction de la variation de la densité d'ADN dans le noyau ou de la forme de la chromatine au sein des territoires chromosomiques. Par conséquent le choix a été fait de calculer tous les dommages possibles obtenus dans notre géométrie, donc les dommages révélés par l'algorithme de clusterisation seront des candidats potentiels aux cassures de brins.

Dans ces conditions, le tableau III-2 répertorie en trois grandes catégories les différents types de clusters de dommages que nous pouvons obtenir suite aux passages de nos données dans l'algorithme de clusterisation. La première catégorie correspond aux dépôts d'énergie localisés dans les groupe sucre / phosphate mais localisés à une distance supérieure à 10 paires de bases de tout autre dépôt d'énergie (dépôt isolé ou « bruit »). La seconde catégorie correspond au cluster simple c'est-à-dire au cluster contenant au minimum deux dépôts d'énergie séparés par une distance inférieure à 3,2 nm mais localisés sur le même brin. Ces deux premiers groupes pourraient contribuer aux cassures simple brin de l'ADN (de manière plus ou moins complexe) et dans la suite de ce travail ils sont appelés « candidats au SSB » (SSB_{cand}). La dernière catégorie correspond à des clusters de dépôts d'énergie pouvant contribuer aux cassures double brin de l'ADN car au moins un des dépôts d'énergie du cluster est situé sur le brin opposé à une distance inférieure à 3,2 nm (DSB_{cand}). Ces candidats aux cassures double brin pourront être également plus ou moins complexes en fonction du nombre de dépôts d'énergie qui composeront le cluster.

Tableau III-2 : Les trois catégories de dommages à l'ADN considérées dans notre étude.

Type de dommages	Définition	Représentation des dommages à l'ADN	Abréviation
Points d'interaction isolés	Points d'interaction localisés à plus de 3,2 nm de tout autre point (pas de cluster révélé)		Candidats aux SSB
Cluster simple	Points d'interaction localisés sur le même brin et séparés par moins de 3,2 nm		(SSB_{cand})
Cluster complexe	Points d'interaction ou au moins l'un d'entre eux est localisé sur un brin différent et séparé par moins de 3,2 nm		Candidats aux DSB (DSB_{cand})

Chaque événement est traité indépendamment et en sortie nous obtenons un fichier contenant le numéro de l'événement, le numéro du cluster, les coordonnées du centre du cluster, le nombre de points, l'énergie et le rayon de celui-ci ainsi qu'une information relative au type de dommage.

III.5 Références

[BER09]

M.A. Bernal, J.A. Liendo.

An investigation on the capabilities of the PENELOPE MC code in nanodosimetry.

Medical Physics 36 (2009) 620-625.

[BER11]

M.A. Bernal, C.E. deAlmeida, C. Sampaio, S. Incerti, C. Champion, P. Nieminen.

The invariance of the total direct DNA strand break yield.

Medical Physics 38 (2011) 4147-4153.

[CHA89]

D.E. Charlton, H. Nikjoo, J.L. Humm.

Calculation of initial yields of single and double strand breaks in cell nuclei from electrons, protons and alpha particles.

International Journal of Radiation Biology 56 (1989) 1-19.

[DIC82]

R. E. Dickerson, H. R. Drew, B. N. Conner, R. M. Wing, A. V. Fratini, M. L. Kopka.

The anatomy of A-, B-, and Z-DNA.

Science 216 (1982) 475-485.

[DOS13]

M. Dos Santos, C. Villagrasa, I. Clairand, S. Incerti.

Influence of the DNA density on the number of clustered damages created by protons of different energies

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 298 (2013) 47-54.

[EST96]

M. Ester, H-P. Kriegel, J. Sander, X. Xu.

A density-based algorithm for discovering clusters in large spatial databases with noise.

Proceeding of 2nd International Conference on knowledge discovery and data mining (KDD 1996).

[FRA11]

Z. Francis, C. Villagrasa, I. Clairand.

Simulation of DNA damage clustering after proton irradiation using an adapted DBSCAN algorithm.

Computer Methods and Programs in Biomedicine 101 (2011) 265-670.

[FRI98]

W. Friedland, P. Jacob, H.G. Paretzke, T. Stork.

Monte Carlo simulation of the production of short DNA fragments by low linear energy transfer radiation using higher order DNA models.

Radiation Research 150 (1998) 170-182.

[FRI03]

W. Friedland, P. Jacob, P. Bernhardt, H.G. Paretzke, M. Dingfelder.

Simulation of DNA damage after proton irradiation.

Radiation Research 59 (2003) 401-410.

[FRI08]

W. Friedland, H.G. Paretzke, F. Ballarini, A. Ottolenghi, G. Kreth, C. Cremer.

First steps toward systems radiation biology studies concerned with DNA and chromosome structure with living cells.

Radiation and Environmental Biophysics 47 (2008) 49-61.

[FRI11]

W. Friedland, M. Dingfelder, P. Kundrat, P. Jacob.

Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC.

Mutation Research 711 (2011) 28-40.

[GEA11]

Geant4 collaboration.

Geant4 user's guide for application developers, version geant4 9.5.

<http://geant4.web.cern.ch/geant4/UserDocumentation/UsersGuides/InstallationGuide/BackupVersions/V9.5/fo/BookInstalGuide.pdf>

[GOO89]

D.T. Goodhead, H. Nikjoo.

Track structure analysis of ultrasoft X-rays compared to high and low LET radiations.

International Journal of Radiation Biology 55 (1989) 513-529.

[HAR79]

J. A. Hartigan, M. A. Wong.

Algorithm AS 136, a K-means clustering algorithm.

Journal of the Royal Statistical Society Series C (Applied Statistics) 28 (1979) 100-108.

[LJU91]

M. Ljungman, S. Nyberg, J. Nygren, M. Eriksson, G. Ahnström.

DNA-bound proteins contribute much more than soluble intracellular compounds to the intrinsic protection against radiation-induced DNA strand breaks in human cells.

Radiation Research 127(1991) 171-176.

[MIC94]

V. Michalik, M. Begusova.

Target model of nucleosome particle for track structure calculations and DNA damage modeling.

International Journal of Radiation Biology 66 (1994) 267-277.

[MIC00]

B. D. Michael, P. O'Neill.

Molecular biology. A sting in the tail of electron tracks.

Science 287 (2000) 1603-1604.

[NG94]

R. T. Ng, J. Han.

Efficient and effective clustering methods for spatial data mining.

Proceeding of the 20th VLDB conference Santiago, Chile (1994) 144-155.

[NIK97]

H. Nikjoo, P. O'Neill, D.T. Goodhead, M. Terrissol.

Computational modelling of low-energy electron-induced DNA damage by early physical and chemical events.

International Journal of Radiation Biology 71 (1997) 467-483.

[NIK01]

H. Nikjoo, P. O'Neill, W.E. Wilson, D.T. Goodhead

Computational Approach for determining the spectrum of DNA damage induced by ionizing radiation.

Radiation Research 156 (2001) 577-583.

[NIK11]

H. Nikjoo, P. Girard.

A model of the cell nucleus for DNA damage calculations.

International Journal of Radiation Biology 88 (2011) 87-97.

[SAL06]

F. Salvat, X. Llovet, J.M. Fernandez-Varea, J. Sempau.

Monte Carlo simulation in electron probe microanalysis. Comparison of different simulation algorithms.

Microchimica Acta 155 (2006) 67-74.

[WEB01]

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/af/DBSCAN-Illustration.svg/500px-DBSCAN-Illustration.svg.png>

[ZHA96]

T. Zhang, R. Ramakrishnan, M. Livny.

Birch an efficient data clustering method for very large databases.

Proceeding of ACM-SIGMOD International Conference Management of Data (1996) 103-114.

CHAPITRE IV- RÉSULTATS

Ce chapitre, divisé en six parties, est consacré à la présentation des résultats obtenus suite aux modélisations réalisées au sein des modèles géométriques présentés au chapitre précédent irradiés avec des ions légers (protons et alphas).

La première partie est consacrée à la présentation de la configuration utilisée pour réaliser les modélisations Monte-Carlo en utilisant les noyaux cellulaires comme cibles. Nous mettrons également en évidence le nombre de traces nécessaires pour obtenir un résultat statistiquement stable en termes de dommages par particule et par micromètre ainsi que le temps nécessaire pour réaliser les simulations.

Les trois parties suivantes sont consacrées aux résultats obtenus au sein des deux noyaux cellulaires, fibroblaste et endothélium, présentés dans le chapitre III. Ainsi, les résultats de la deuxième partie évaluent l'influence de la densité d'ADN et du type d'irradiation sur le nombre et la complexité des dommages directs de type SSB et DSB obtenus dans la molécule d'ADN. De plus, une étude sur les dimensions des rayons des clusters a également été réalisée en évaluant, d'une part, le rayon moyen des clusters et leurs proportions en fonction de leurs dimensions et, d'autre part, les rayons moyens des DSB en fonction de leurs complexités. La troisième partie est consacrée à l'étude des résultats obtenus au niveau des candidats aux DSB en fonction de la dose (DSB/Gy/ μm). Nous montrerons en quoi le fait de traiter les traces des particules de manière indépendante ou non pour l'évaluation des dommages pour une dose donnée a une influence sur les résultats. La quatrième partie sera quant à elle consacrée à une étude sur la probabilité qu'une trace d'une qualité de rayonnement donnée a de rencontrer la cible d'ADN. Nous verrons que l'allure de ces résultats présente des similitudes intéressantes par rapport aux résultats concernant les EBR des différentes particules simulées. Les dommages pris en compte pour la détermination des EBR ayant des dimensions plus grandes que celles des cassures double brin de l'ADN (3,2 nm), l'influence du paramètre RMS utilisé dans la clustérisation pour la détection de ces dommages sera également étudiée.

La cinquième partie est dédiée à l'analyse de l'influence de la morphologie cellulaire sur les résultats des dommages directs à l'ADN. En particulier, une comparaison des résultats obtenus dans des noyaux d'endothélium ayant des dimensions identiques en longueur et largeur mais ayant des épaisseurs différentes sera présentée. Ainsi, dans cette section, nous évaluerons l'influence d'avoir des noyaux cellulaires de forme ellipsoïdale ou de forme cylindrique (épaisseur constante) sur les résultats des dommages directs à l'ADN. Ainsi, de manière à pouvoir réaliser cette comparaison, un nouveau noyau de type endothélium a été implémenté dans Geant4 à partir de légères modifications du positionnement des boucles d'ADN par rapport à celui présenté au chapitre III.

Enfin, la dernière partie de ce chapitre est consacrée aux simulations réalisées dans les territoires chromosomiques isolés présentés dans la section III.3.3 où les nucléosomes sont soit placés de manière aléatoire dans le volume, soit arrangés sous forme de fibre de chromatine solénoïdale. Ainsi, nous mettrons en évidence l'influence de la décondensation de la chromatine sur le nombre et la complexité des clusters directs.

IV.1 Simulation de l' irradiation

IV.1.1 Configuration des simulations

Dans ce travail des simulations avec des protons ayant des énergies comprises entre 0,3 et 50 MeV et des alphas ayant des énergies comprises entre 5 et 50 MeV ont été réalisées. Les faisceaux de protons et d'alphas ont été simulés de manière à représenter la configuration la plus souvent rencontrée lors des expériences de radiobiologie : perpendiculaire à la culture cellulaire (parallèlement à l'épaisseur la plus faible de la cellule) comme nous le montre la figure IV-1.

La coordonnée du point z a été choisie de manière à être positionnée à l'entrée du noyau cellulaire à l'endroit où son épaisseur est maximale, c'est-à-dire au centre de l'ellipsoïde (0, 0, z_i). Dans cette étude la coordonnée z sera donc positionnée en -2,5 μm dans le cas du noyau du fibroblaste et en -1 μm pour l'endothélium. Les positions initiales x et y du faisceau sont quant à elles choisies aléatoirement de manière à recouvrir toute la surface du noyau, néanmoins en évitant les extrémités du noyau de manière à ne pas influencer les résultats par des parcours extrêmement faibles et où la densité d'ADN n'est pas équivalente au reste du noyau.

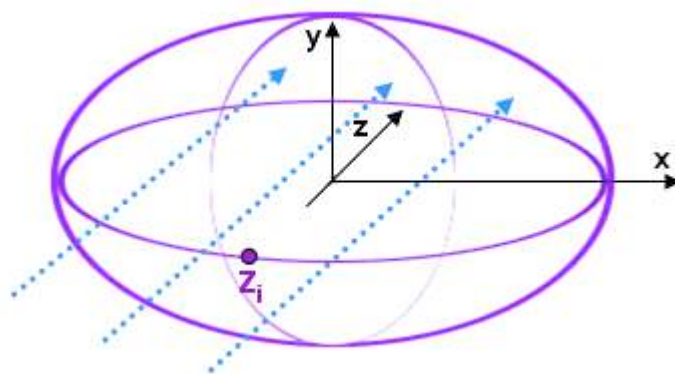


Figure IV-1 : Configuration de la simulation, les particules primaires sont tirées parallèlement à l'axe z.

L'épaisseur maximale traversée par les particules est de 5 μm pour le fibroblaste et de 2 μm pour l'endothélium. Par conséquent il était important de vérifier que les particules simulées ne s'arrêtent pas dans les noyaux, surtout pour celles ayant des TEL élevés, car les résultats présentés dans ce chapitre sont donnés par particule et par micromètre et ceux-ci seraient faussés si certains protons ne traversaient pas le noyau complet.

Ainsi, les parcours moyens des protons et des alphas simulés ont été calculés et les résultats de la valeur moyenne de ces parcours ont été reportés dans les tableaux IV-1 et IV-2.

Tableau IV-1 : Parcours moyen des protons dans l'eau liquide.

E (MeV)	TEL (keV/μm)	Parcours proton (μm)
0,3	55,0	4,9
0,5	41,9	10,2
0,7	35,2	14,4
1	26,9	20,5
2	16,9	70,7
5	8,3	334,9
10	4,8	1137,7

Tableau IV-2 : Parcours moyen des alphas dans l'eau liquide.

E (MeV)	TEL (keV/μm)	Parcours alpha (μm)
5	88,6	38,3
10	53,4	117,8
15	39,3	236,7
17,5	34,9	309,6
25	26,4	581,1
50	15,2	2021,7

Concernant les protons, pour des énergies supérieures à 0,5 MeV, il a été constaté que leurs parcours sont suffisamment importants pour traverser les noyaux et ne pas s'arrêter à l'intérieur de ceux-ci. Pour l'énergie de 0,3 MeV, les protons peuvent s'arrêter dans le fibroblaste étant donné que son épaisseur maximale est de 5 μm et que le parcours moyen pour cette énergie est inférieur à cette longueur. Néanmoins ce cas ne se produit que rarement étant donné que les positions x et y sont choisies aléatoirement pour chaque événement et que le noyau de fibroblaste a uniquement une épaisseur de 5 μm en son centre.

Concernant les particules alpha, pour les énergies choisies pour nos modélisations, leurs parcours sont suffisamment grands pour toujours traverser les deux noyaux cellulaires sans s'arrêter à l'intérieur.

Les transferts d'énergie linéique indiqués dans les tableaux de ce chapitre sont le résultat de simulations réalisées avec Geant4. Ils ont été calculés à partir de l'énergie déposée dans l'eau liquide dans une tranche de 1 μm d'épaisseur pour des particules à l'énergie nominale initiale, par conséquent suffisamment minces pour considérer constante l'énergie du projectile, pour la plupart des énergies simulées, mais permettant un nombre suffisant d'interactions pour une détermination correcte de la perte d'énergie.

IV.1.2 Estimation du nombre de traces minimales à simuler

Une évaluation concernant le nombre de traces minimales à simuler de manière à obtenir un résultat statistiquement stable en termes de dommages par particule et par micromètre a été réalisée. Comme attendu, le nombre de traces à simuler est dépendant de l'énergie des particules primaires et donc du TEL. Pour les particules à bas TEL un nombre de 5000 traces est nécessaire, tandis que pour celles à haut TEL, 1500 traces sont suffisantes pour obtenir un résultat qui soit stable statistiquement en termes de nombre de dommages par particule et par micromètre ne variant pas plus de 2 %.

Néanmoins, dans le cas de l'étude du nombre de dommages directs pour une dose absorbée donnée, le nombre de traces simulées peut atteindre 1970 traces pour un Gy pour le TEL le plus faible (cf. section IV.4). Ainsi, en fonction du TEL de la particule primaire, 10 000 à 50 000 traces ont été simulées.

IV.1.3 Durée des simulations

Comme mentionné dans le chapitre II, toutes les interactions des particules sont simulées de manière discrète et les électrons secondaires sont suivis jusqu'à leur thermalisation. Ceci augmente considérablement le temps des simulations par rapport aux simulations dans les codes de type « généraliste / macroscopique ». Ainsi, nous avons voulu évaluer, d'une part, le temps nécessaire pour simuler un événement dans Geant4-DNA dans un milieu d'eau homogène et, d'autre part, l'influence de notre géométrie sur la durée des modélisations. Nos simulations ont été réalisées sur des monoprocesseurs de 2,3 Gigahertz et, pour cette évaluation, les processus pris en compte sont les ionisations, excitations et transferts de charges pour les particules primaires (proton et alpha) et les ionisations et les excitations pour les électrons secondaires.

Pour les simulations avec les protons, nous avons pu constater que l'introduction de la géométrie dans les simulations multiplie par 30 le temps de calcul pour un événement dans le noyau de fibroblaste (10,1 secondes contre 302,7 secondes pour les protons de 0,5 MeV) et par 150 dans le noyau de l'endothélium (3,8 secondes contre 625,8 secondes pour les protons de 0,5 MeV). Ainsi, l'introduction de la géométrie augmente considérablement le temps de calcul.

Concernant les simulations avec les alphas, des différences beaucoup moins importantes ont été observées, l'introduction de la géométrie dans les simulations n'augmente que légèrement le temps de calcul (1337 secondes contre 1493 secondes pour les alphas de 17,5 MeV). Néanmoins, lorsque l'on compare le temps de simulations pour un même TEL proton et alpha, le temps de simulations est beaucoup plus important pour les alphas (1725 secondes contre 598 secondes pour un TEL d'environ 35 keV/ μ m). Ceci est lié au fait que, pour un même TEL, des électrons secondaires

beaucoup plus énergétiques sont générés suite aux simulations avec des alphas et leurs parcours est donc plus coûteux en termes de temps de calcul.

Ainsi, le temps des simulations peut varier de quelques jours à plusieurs semaines en fonction de la particule, du TEL de celle-ci et de la statistique souhaitée liée aux nombres d'événements simulés. Néanmoins, bien que la géométrie augmente le temps des simulations, comme nous l'avons vu dans le chapitre I, l'implémentation d'une géométrie détaillée de l'ADN au sein du code de calcul est un réel atout pour l'étude des effets biologiques induits par les rayonnements ionisants.

IV.2 Influence de la densité d' ADN et du type d' irradiation sur les dommages directs radio-induits

Cette section présente les résultats obtenus dans les deux types de noyaux cellulaires, à savoir le noyau de l'endothélium et du fibroblaste, suite à des simulations réalisées avec des protons et des alphas et ces résultats ont fait l'objet de deux publications [DOS13a, DOS13b]. L'évaluation de l'influence de la densité d'ADN et du type d'irradiation sur le nombre et la complexité des candidats aux dommages directs de type DSB et SSB, ainsi que le ratio entre ces dommages ont été étudiés.

Il est important de noter que, de manière à pouvoir comparer les deux types de noyaux n'ayant pas la même épaisseur, les résultats ont été normalisés par la longueur moyenne traversée par la particule primaire. Cette longueur est de 1,375 μm pour le noyau de l'endothélium et de 3,556 μm pour le noyau de fibroblaste. Ainsi l'ensemble des résultats présentés dans ce chapitre sont donnés par particule et par micromètre (DSB/proton/ μm , DSB/alpha/ μm).

De manière à simplifier la lecture des figures, les résultats obtenus dans le noyau de l'endothélium sont représentés par des symboles de forme carrée et ceux obtenus dans le noyau du fibroblaste par des losanges. La couleur bleue sera utilisée pour les simulations proton tandis que la couleur rose sera utilisée pour les simulations alpha.

IV.2.1 Quantification des candidats aux dommages directs

IV.2.1.1 Candidats aux dommages de type DSB

Comme expliqué dans le chapitre III, les dommages de type DSB sont les dommages correspondant à un cluster composé d'au moins deux dépôts d'énergie et dont au moins l'un de ces dépôts est localisé sur un brin opposé aux autres.

Le tableau IV-3 reporte, pour les deux noyaux cellulaires, le nombre de candidats aux DSB par proton et par micromètre, leurs erreurs statistiques respectives ainsi que la différence (%) entre les deux types de noyaux pour une énergie donnée.

Tableau IV-3 : Quantification des DSB par proton et par micromètre obtenus au sein des deux noyaux cellulaires.

E (MeV)	TEL (keV/ μm)	DSB/p/ μm		Différence (%)
		Endothélium	Fibroblaste	
0,3	55,0	$2,784 \pm 0,149$	$0,916 \pm 0,018$	67,1
0,5	41,9	$2,015 \pm 0,086$	$0,711 \pm 0,009$	64,7
0,7	35,2	$1,620 \pm 0,057$	$0,582 \pm 0,006$	64,1
1	26,9	$1,165 \pm 0,029$	$0,409 \pm 0,003$	64,9
2	16,9	$0,620 \pm 0,008$	$0,198 \pm 8.10^{-4}$	68,1
5	8,3	$0,242 \pm 0,001$	$0,079 \pm 9.10^{-5}$	67,4
10	4,8	$0,118 \pm 3.10^{-4}$	$0,039 \pm 3.10^{-5}$	66,9
20	2,7	$0,056 \pm 6.10^{-5}$	$0,017 \pm 9.10^{-6}$	69,6
50	1,3	$0,021 \pm 1.10^{-5}$	$0,006 \pm 1.10^{-6}$	71,4

Ces résultats montrent une augmentation du nombre total de DSB/proton/ μm avec le TEL de la particule primaire. En effet, l'augmentation du TEL augmente la densité du nombre de points de transfert d'énergie de la trace. Par conséquent, la probabilité d'avoir des dépôts d'énergie localisés dans notre région sensible, le squelette, conduisant à des dommages à l'ADN, augmente avec le TEL.

De plus, il est également observé que le nombre de dommages est toujours plus important dans le noyau de l'endothélium pour toutes les énergies simulées. Comme la densité d'ADN est plus grande dans le noyau de l'endothélium (facteur $\sim 3,3$) et que la distance entre les dépôts d'énergie est dépendante de l'énergie de la particule, pour un même TEL, la probabilité d'avoir une interaction dans la région du squelette de l'ADN est plus importante dans l'endothélium que dans le fibroblaste. En réalité il a été observé que la différence entre le nombre de DSB/proton/ μm entre les deux noyaux correspond approximativement à la différence des densités d'ADN et donc au rapport de volume entre les deux noyaux. Le rapport de volume entre les noyaux est conservé au niveau du nombre de DSB/proton/ μm car, d'une part, le nombre de DSB est moyenné par la valeur moyenne de l'épaisseur traversée et, d'autre part, au niveau micrométrique la densité d'ADN est homogène.

On note de plus que la différence de quantité de DSB/proton/ μm existant entre les deux types de noyaux cellulaires (dernière colonne du tableau IV-3) est bien le reflet du rapport de densité d'ADN (3,3).

Ensuite, de manière à évaluer l'influence du type d'irradiation, des simulations avec des alphas ont été réalisées au sein des deux noyaux cellulaires et le même type d'analyse a été réalisé. Les résultats obtenus suite à ces simulations sont reportés dans le tableau IV-4.

Tableau IV-4 : Quantification des DSB par alpha et par micromètre obtenus au sein des deux noyaux cellulaires.

E (MeV)	TEL (keV/ μm)	DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$		Différence (%)
		Endothélium	Fibroblaste	
5	88,6	$2,559 \pm 0,075$	$0,713 \pm 0,005$	72,1
10	53,4	$1,468 \pm 0,026$	$0,408 \pm 0,002$	72,2
15	39,3	$0,997 \pm 0,012$	$0,302 \pm 0,001$	69,7
17,5	34,9	$0,867 \pm 0,010$	$0,259 \pm 9.10^{-4}$	70,1
25	26,4	$0,609 \pm 0,006$	$0,194 \pm 6.10^{-4}$	68,1
50	15,2	$0,292 \pm 0,003$	$0,092 \pm 3.10^{-4}$	68,5

Comme dans le cas des simulations avec les protons, le nombre de candidats aux DSB augmente avec le TEL du fait de l'augmentation de la densité de la trace. De la même manière, pour un même TEL, davantage de dommages ont été trouvés dans le noyau de l'endothélium en raison de la densité d'ADN plus importante dans l'endothélium et le même facteur a été trouvé entre les dommages en fonction du type cellulaire pour un TEL donné. Comme précédemment, la différence au niveau du nombre de DSB est d'environ 70% entre les noyaux et ce quel que soit le TEL de la particule primaire, reflétant toujours le facteur 3,3 existant entre les volumes des deux noyaux. Les protons et les alphas ont donc le même comportement face à la variation du TEL.

Rappelons que les résultats présentés dans les tableaux IV-3 et IV-4 sont donnés par particule et par micromètre et que les épaisseurs moyennes traversées sont de 1,375 μm dans le cas de l'endothélium et 3,556 μm dans le cas du fibroblaste. Par conséquent, il était prévisible qu'une plus grande quantité de clusters soit trouvée dans le cas de l'endothélium. Néanmoins, de manière à évaluer l'influence de l'épaisseur du noyau cellulaire sur le nombre de dommages DSB induits dans nos noyaux cellulaires, les tableaux IV-5 et IV-6 reportent les données sur le nombre de DSB par particule obtenus suite aux simulations protons et alphas.

Tableau IV-5 : Quantification des DSB par proton dans les deux noyaux cellulaires.

TEL (keV/ μm)	Endothélium	Fibroblaste
55,0	3,829	3,259
41,9	2,771	2,529
35,2	2,228	2,071
26,1	1,602	1,454
15,9	0,852	0,705
7,91	0,333	0,280
4,57	0,162	0,140
2,61	0,076	0,062
1,25	0,029	0,021

Tableau IV-6 : Quantification des DSB par alpha dans les deux noyaux cellulaires.

TEL (keV/ μm)	Endothélium	Fibroblaste
88,6	3,519	2,537
53,4	2,019	1,452
39,3	1,370	1,073
34,9	1,192	0,920
26,4	0,838	0,690
15,2	0,401	0,326

D'après les résultats présentés dans les tableaux IV-5 et IV-6, bien que le noyau de l'endothélium soit moins épais que le fibroblaste (2 μm contre 5 μm) et qu'un peu plus d'un facteur trois existe entre les volumes des deux noyaux (densité d'environ $27 \cdot 10^6$ bp / μm^3 dans l'endothélium contre environ $82 \cdot 10^5$ bp / μm^3 dans le fibroblaste), il y a quand même toujours plus de dommages qui sont produits dans l'endothélium du fait de sa plus grande densité. Ainsi, la densité d'ADN au sein des noyaux cellulaires a une influence non négligeable sur la quantité totale de dommages induite dans un noyau cellulaire donné que l'on ne voit pas lorsque l'on divise par l'épaisseur moyenne. Cette différence est liée au fait que la cible n'est pas homogène au niveau nanométrique du fait de la condensation de l'ADN sous forme de bâtonnets de chromatine.

Revenons à la quantification des DSB par particule et par micromètre, de manière à visualiser la comparaison entre les deux types de particules, la figure IV-2 reporte les résultats obtenus dans les deux noyaux cellulaires pour les deux types d'irradiation.

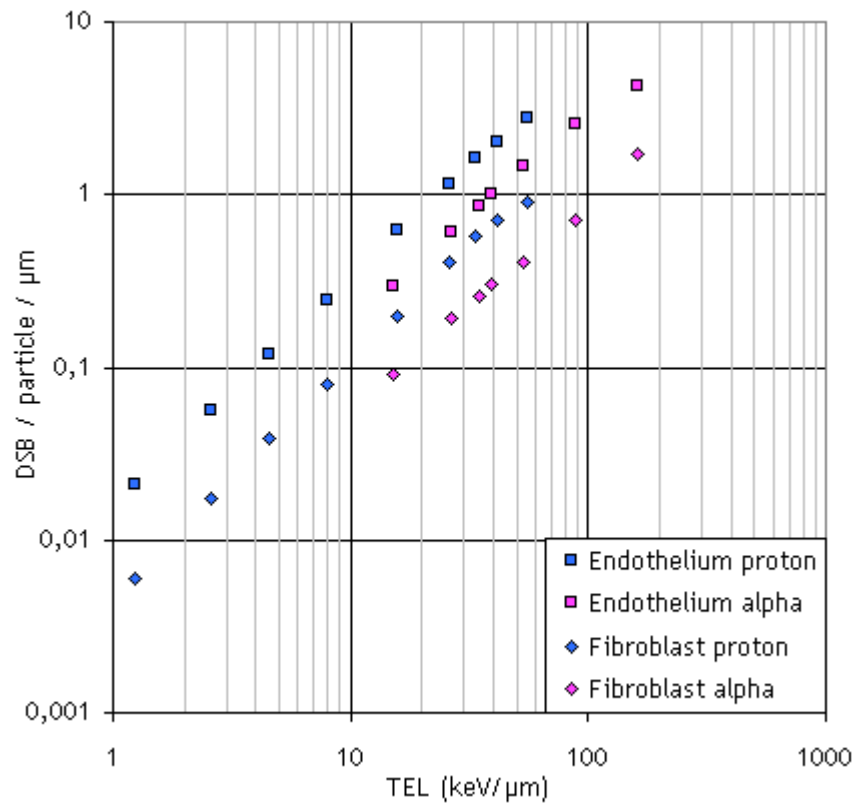


Figure IV-2 : Evolution et comparaison du nombre de DSB par particule et par μm dans les deux types de noyaux cellulaires pour les simulations protons et alphas.

Si l'on compare les deux particules, nous pouvons constater que pour un TEL et un noyau donné, la probabilité de trouver des dommages de type DSB est toujours plus importante dans le cas d'une simulation avec des protons. En effet, comme l'énergie communiquée aux électrons est dépendante de l'énergie des particules primaires, pour un même TEL, des électrons plus énergétiques sont créés suite à une irradiation avec des alphas. Ces électrons auront donc une section efficace d'interaction plus faible et par conséquent un libre parcours moyen plus important conduisant à des dépôts d'énergie plus espacés dans la trace. Dit autrement, dans le cas des protons, comme l'énergie transmise au milieu se fait essentiellement par les électrons de faibles énergies, ces transferts d'énergie sont proches de la trace primaire et en plus grande quantité que dans le cas des alphas pour un même TEL, comme montré au chapitre I (figure I-3).

Ceci est vérifié dans la figure IV-3 qui montre les spectres des électrons secondaires produits lors de l'ionisation du milieu par des protons de 1 MeV et des alphas de 25 MeV ($\sim 27 \text{ keV}/\mu\text{m}$).

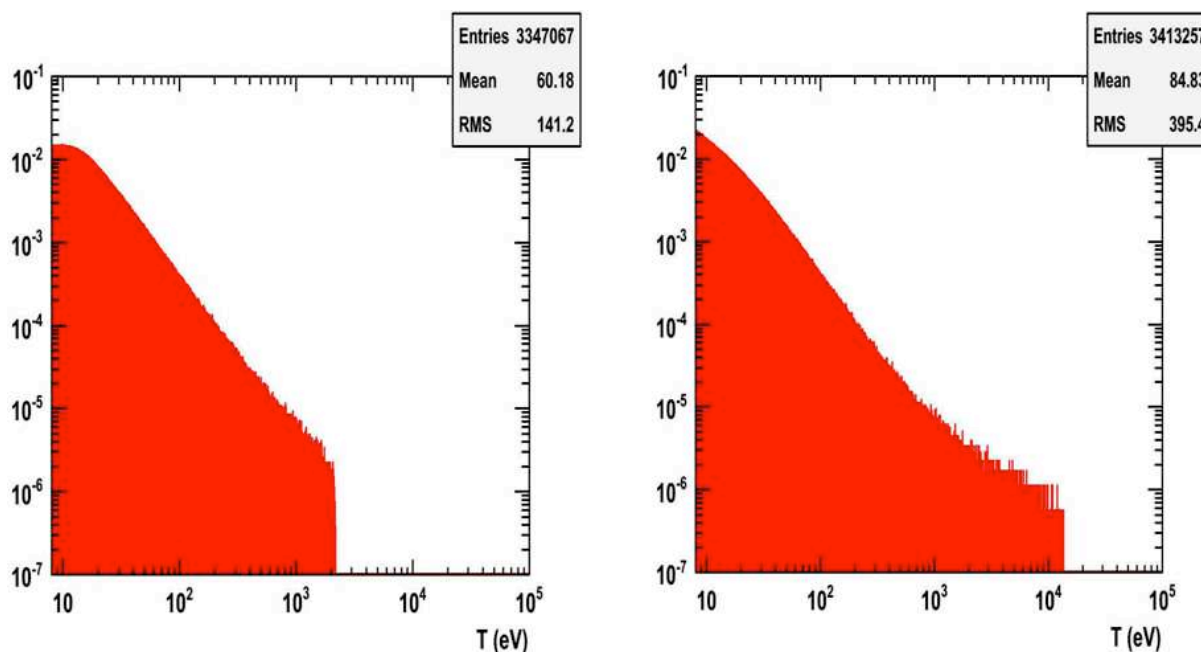


Figure IV-3 : Spectres des électrons secondaires obtenus suite au passage de protons de 1 MeV (à gauche) et au passage d'alphas de 25 MeV (à droite).

Ces spectres montrent bien que les particules alphas peuvent émettre des électrons avec des énergies cinétiques plus grandes que ceux des protons. Ce phénomène traduit le fait que la pénombre autour de la trace primaire est moins large et que les électrons secondaires sont plus proches des ionisations des protons comparés à ceux des alphas de même TEL. Nous pouvons également constater que cette différence est liée à une faible proportion d'électrons mais qui vont avoir une influence non négligeable sur le nombre et la complexité des dommages. De plus, comme nous l'avons vu au chapitre I sur la figure I-3, pour un même TEL, plus d'électrons sont créés suite au passage des protons contribuant ainsi à l'augmentation de la probabilité d'avoir des cassures double brin de l'ADN.

De plus, bien que nos résultats ne concernent que les dommages dus aux effets directs des rayonnements ionisants, ils sont en accord avec des données expérimentales obtenues sur des fibroblastes [FRA99, LEL05] et des données simulées avec le code PARTRAC au sein d'une géométrie détaillée de noyau cellulaire [FRI03, CAM05] où, pour un même TEL, davantage de cassures double brin sont trouvées suite à une irradiation avec des protons.

Comme les énergies utilisées pour les simulations ont été choisies de manière à avoir cinq TEL comparables entre les deux types de particules, la différence entre proton et alpha sur le nombre de candidats au DSB par particule et par micromètre pour un TEL et un noyau cellulaire donné a pu être calculée et cette différence est obtenue en faisant le ratio entre le nombre de candidats aux

dommages DSB par particule et par micromètre obtenus suite aux simulations alphas et celui des protons. Les résultats obtenus ont été reportés dans le tableau IV-7.

$$\text{différence (\%)} = \left(\frac{\text{DSB} / \text{p} / \mu\text{m} - \text{DSB} / \alpha / \mu\text{m}}{\text{DSB} / \text{p} / \mu\text{m}} \right) * 100 \quad (\text{IV.1})$$

Tableau IV-7 : Différence au niveau du nombre de DSB entre les irradiations protons et alphas pour un même TEL et pour chaque noyau cellulaire (en %).

TEL p (keV/ μm)	TEL α (keV/ μm)	Endothélium	Fibroblaste
55,0	53,4	47,3	55,5
41,9	39,3	50,5	57,5
35,2	34,9	46,5	55,5
26,9	26,4	47,7	52,6
16,9	15,2	52,9	53,5
Valeur moyenne		$49,0 \pm 2,7$	$54,9 \pm 1,9$

D'après ces résultats, quel que soit le noyau cellulaire, la différence entre proton et alpha est sensiblement la même quel que soit le TEL des particules primaires. Cette différence est d'environ 49 % dans le cas de l'endothélium et de 55 % dans le cas du fibroblaste. Les différences entre les types d'irradiation sont liées à l'inhomogénéité de la cible au niveau nanométrique. Ces différences sont plus importantes dans le cas du noyau du fibroblaste du fait de sa plus faible densité et donc de différences géométriques plus importantes au niveau nanométrique.

IV.2.1.2 Candidats aux dommages de type SSB

Comme nous l'avons vu au chapitre III, deux types de SSB peuvent être distingués : les SSB isolées (SSB_{is}) et les SSB complexes (SSB_{cplx}) correspondant à des clusters composés par des dépôts d'énergie localisés sur un seul brin de l'ADN. Ainsi, de la même manière que pour les candidats aux dommages de type DSB, ces deux types de dommages SSB ont été étudiés et les tableaux qui suivent reportent les résultats sur la quantification de ces dommages ainsi que la différence entre les deux types de noyaux cellulaires.

Les tableaux IV-8 à IV-11 reportent les résultats des dommages SSB isolées et complexes obtenus suite aux simulations réalisées avec les protons et les alphas au sein des deux noyaux cellulaires.

Tableau IV-8 : Quantification des SSB isolées par proton et par micromètre obtenues au sein des deux noyaux cellulaires.

E (MeV)	TEL (keV/ μm)	SSB _{is} /p/ μm		Différence (%)
		Endothélium	Fibroblaste	
0,3	55,0	3,970 \pm 0,230	1,056 \pm 0,022	73,4
0,5	41,9	4,171 \pm 0,334	1,297 \pm 0,030	68,9
0,7	35,2	4,036 \pm 0,314	1,358 \pm 0,031	66,4
1	26,9	3,643 \pm 0,251	1,243 \pm 0,026	65,9
2	16,9	2,805 \pm 0,146	0,915 \pm 0,014	67,4
5	8,3	1,565 \pm 0,033	0,533 \pm 0,003	65,9
10	4,8	0,942 \pm 0,012	0,336 \pm 0,001	64,2
20	2,7	0,561 \pm 0,003	0,203 \pm 4.10 ⁻⁴	63,7
50	1,3	0,272 \pm 0,001	0,099 \pm 1.10 ⁻⁴	63,4

Tableau IV-9 : Quantification des SSB complexes par proton et par micromètre obtenues au sein des deux noyaux cellulaires.

E (MeV)	TEL (keV/ μm)	SSB _{cplx} /p/ μm		Différence (%)
		Endothélium	Fibroblaste	
0,3	55,0	2,240 \pm 0,177	0,651 \pm 0,010	70,9
0,5	41,9	2,139 \pm 0,094	0,693 \pm 0,009	67,6
0,7	35,2	1,818 \pm 0,069	0,642 \pm 0,007	64,7
1	26,9	1,465 \pm 0,045	0,519 \pm 0,005	64,5
2	16,9	0,942 \pm 0,018	0,298 \pm 0,002	68,3
5	8,3	0,416 \pm 0,004	0,136 \pm 3.10 ⁻⁴	67,3
10	4,8	0,220 \pm 0,001	0,071 \pm 7.10 ⁻⁵	67,8
20	2,7	0,111 \pm 4.10 ⁻⁴	0,034 \pm 3.10 ⁻⁵	69,8
50	1,3	0,040 \pm 8.10 ⁻⁵	0,011 \pm 3.10 ⁻⁶	71,0

Tableau IV-10 : Quantification des SSB isolées par alpha et par micromètre obtenues au sein des deux noyaux cellulaires.

E (MeV)	TEL (keV/μm)	SSB _{is} /α/μm		Différence (%)
		Endothélium	Fibroblaste	
5	88,6	7,764 ± 0,621	2,267 ± 0,043	70,8
10	53,4	5,994 ± 0,396	1,690 ± 0,029	71,8
15	39,3	4,694 ± 0,239	1,436 ± 0,023	69,4
17,5	34,9	4,291 ± 0,202	1,294 ± 0,018	69,9
25	26,4	3,669 ± 0,154	1,044 ± 0,014	71,5
50	15,2	1,823 ± 0,051	0,608 ± 0,009	66,6

Tableau IV-11 : Quantification des SSB complexes par alpha et par micromètre obtenues au sein des deux noyaux cellulaires.

E (MeV)	TEL (keV/μm)	SSB _{cplx} /α/μm		Différence (%)
		Endothélium	Fibroblaste	
5	88,6	2,905 ± 0,128	0,843 ± 0,006	71,0
10	53,4	1,951 ± 0,059	0,544 ± 0,003	72,1
15	39,3	1,440 ± 0,033	0,428 ± 0,002	70,3
17,5	34,9	1,286 ± 0,026	0,384 ± 0,002	70,1
25	26,4	0,918 ± 0,014	0,294 ± 0,001	68,0
50	15,2	0,475 ± 0,004	0,152 ± 8.10 ⁻⁴	68,0

De manière à mieux visualiser les différences entre les deux types de rayonnement simulés, au niveau de la quantité des SSB et de leur comportement avec l'évolution du TEL, les figures IV-4 et IV-5 reportent respectivement l'évolution du nombre de SSB isolées et de SSB complexes en fonction du TEL des particules primaires.

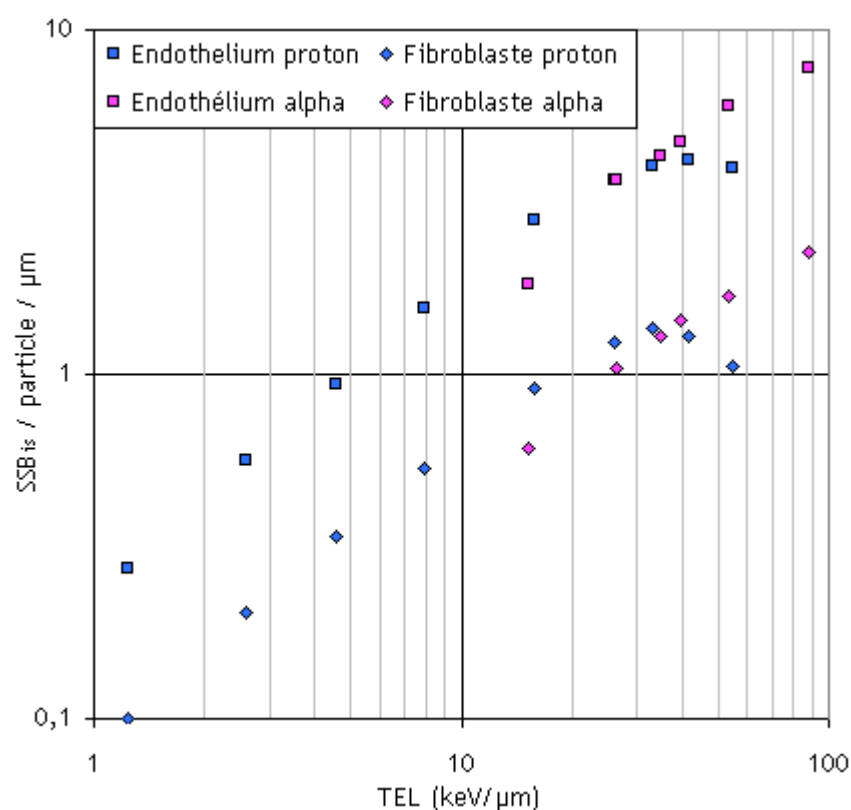


Figure IV-4 : SSB_{is} / particule / μm en fonction du TEL dans les deux types de noyaux cellulaires.

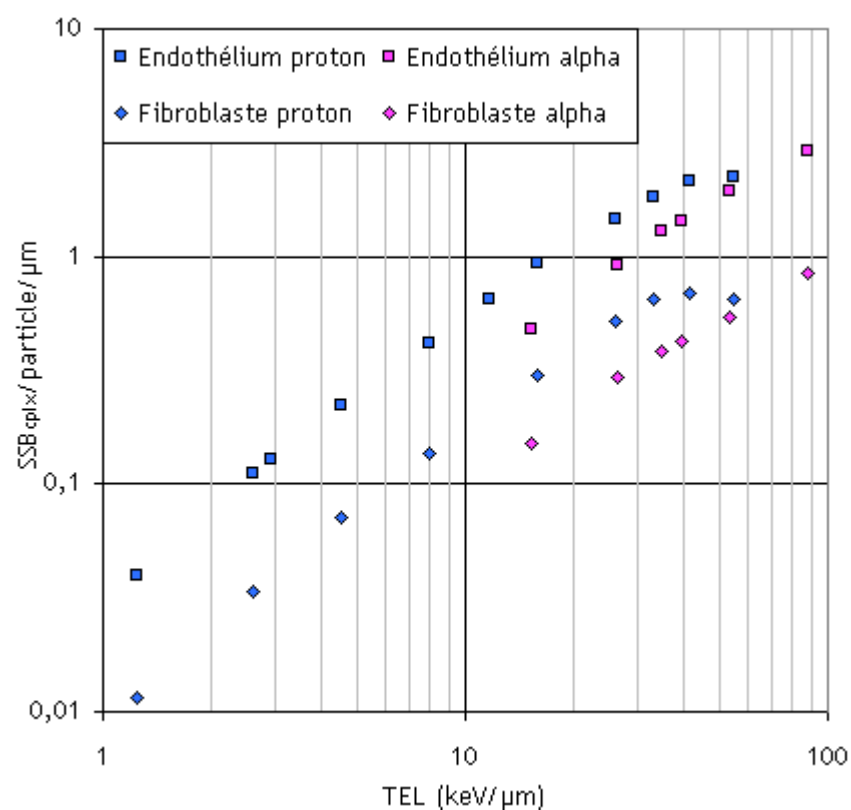


Figure IV-5 : SSB_{cplx} / particule / μm en fonction du TEL dans les deux types de noyaux cellulaires.

Concernant les simulations avec les protons, ces résultats montrent une augmentation du nombre de candidats aux SSB avec le TEL jusqu'à 26,9 keV/ μm pour les SSB isolées et 41,9 keV/ μm pour les SSB complexes. Ensuite le nombre de SSB atteint un maximum puis diminue légèrement lorsque le TEL continue d'augmenter. Ceci est dû au fait que, avec l'augmentation de la densité de la trace, la probabilité d'avoir des dépôts d'énergie assez proches pouvant contribuer aux dommages de type DSB est prédominante par rapport à celle d'avoir des dommages de type SSB, isolés ou complexes. En effet, la probabilité d'avoir des dépôts d'énergie localisés dans les deux brins et à une distance inférieure à 3,2 nm pouvant ainsi former des clusters complexes est plus élevée. Ce phénomène est d'autant plus visible pour le cas des SSB isolées où nous constatons une diminution plus nette de la quantité de celles-ci étant donné que la probabilité d'avoir des clusters augmente avec la densité de la trace. Ceci traduit que la probabilité d'avoir des SSB isolées diminue encore plus que celle d'avoir des SSB complexes avec l'augmentation du TEL des protons. Ceci sera vérifié dans la section suivante dans laquelle nous avons reporté l'évolution des ratios (DSB/SSB). Néanmoins, il est important de rappeler que, dans ce travail, seuls les effets directs des rayonnements sont pris en compte. La prise en compte des effets indirects des rayonnements pourrait engendrer des modifications au niveau de la quantité de SSB notamment des SSB isolées.

D'après les dernières colonnes de ces tableaux nous pouvons observer que, quel que soit le TEL des particules primaires il n'y a pas de variations importantes avec le TEL dans les deux noyaux. La différence entre les deux noyaux est de $66,6 \pm 3,1 \%$ pour les SSB isolées et de $68,0 \pm 2,4 \%$ pour les SSB complexes.

Intéressons nous maintenant aux résultats obtenus suite aux simulations réalisées avec les alphas. Ces résultats montrent que le nombre de SSB isolées ou complexes par alpha et par micromètre augmente linéairement avec le TEL des alphas primaires (figures IV-5 et IV-6) et il y a toujours plus de SSB qui sont produites dans le noyau de l'endothélium. Ainsi, pour ces deux types de dommages, le comportement est le même que celui observé pour les candidats au DSB présentés dans la section précédente. Les dernières colonnes de ces tableaux reportant la différence entre les noyaux cellulaires montrent que quel que soit le TEL des particules primaires il n'y a pas de grande différence entre ces pourcentages et que la différence est de $70,0 \pm 1,9 \%$ pour les SSB isolées et de $69,9 \pm 1,6 \%$ pour les SSB complexes. Ainsi, cette différence constante d'environ 70 % reflète encore le facteur 3,3 qui existe entre les densités des noyaux cellulaires

Ainsi, la principale différence entre les deux qualités de rayonnement est le phénomène de saturation du nombre de SSB, isolées ou complexes, qui apparaît avec l'augmentation du TEL pour les simulations protons alors que pour les alphas l'augmentation du nombre de SSB est linéaire avec l'augmentation du TEL.

Enfin, concernant la comparaison de la qualité du rayonnement, le tableau IV-12 reporte la différence, exprimée en pourcent, obtenue entre les deux types de particules pour les cinq TEL comparables (formule IV.1).

Tableau IV-12 : Différence au niveau du nombre de SSB, isolées ou complexes, entre les irradiations protons et alphas pour un même TEL et pour chaque noyau cellulaire (en %).

TEL p (keV/ μ m)	TEL α (keV/ μ m)	Différence SSB _{is} (%)		Différence SSB _{cplx} (%)	
		Endothélium	Fibroblaste	Endothélium	Fibroblaste
55,0	53,4	-51,0	-60,1	12,9	16,4
41,9	39,3	-12,5	-10,7	32,7	38,3
35,2	34,9	-6,32	4,73	29,3	40,2
26,9	26,4	-0,70	16,0	37,3	43,5
16,9	15,2	35,0	33,5	49,6	49,0

Concernant les SSB isolées, nous observons que pour les TEL les plus faibles c'est pour les protons que nous avons plus de SSB isolées mais, lorsque le TEL augmente, ce phénomène s'inverse et c'est suite aux simulations avec les alphas que l'on a plus de SSB isolées. En effet, plus la trace sera dense, plus il y aura de chance d'avoir des dépôts assez proches pouvant conduire à des dommages sous forme de cluster. Ainsi, pour un même TEL, les protons, en ayant une densité de la trace plus importante, contribuent plus fortement à l'induction de lésions complexes. De plus, nous pouvons observer que ce renversement se produit plus rapidement dans l'endothélium du fait de sa plus grande densité.

Pour les SSB complexes, il y a une diminution de la différence avec l'augmentation du TEL ceci étant lié à la saturation du nombre de SSB complexes pour les protons alors que pour les alphas l'augmentation du nombre de SSB complexes est linéaire.

IV.2.1.3 Evolution du ratio DSB/SSB_{is}

Cette section est dédiée à l'évaluation de la proportion de DSB par rapport à celle des SSB isolées, pour les effets directs des rayonnements, en calculant le ratio de ces dommages pour les différents TEL des particules simulées. Les tableaux IV-13 et IV-14 reportent respectivement les valeurs de ces ratios pour les protons et les alphas. Ces résultats sont également montrés graphiquement en fonction du TEL des particules primaires sur la figure IV-6 et comparés à des données expérimentales obtenues dans des plasmides par Leloup et al. [LEL05], et par Fulford et al. [FUL01],

complété par des calculs Monte-Carlo dans cette dernière étude, dans des fibroblastes d'hamster chinois par Botchway et al. [BOT97]. Dans ces études, les irradiations ont été réalisées avec des X, des alphas et des protons. Nos résultats sont également comparés à ceux obtenus avec le code PARTRAC, dans un noyau cellulaire de type fibroblaste, pour des simulations avec des protons [FRI03].

Tableau IV-13 : Evolution des ratios DSB/SSB suite à une irradiation avec des protons.

E (MeV)	TEL (keV/μm)	$\left(\frac{\text{DSB}}{\text{SSB}_{\text{is}}}\right)_{\text{ENDO}}$	$\left(\frac{\text{DSB}}{\text{SSB}_{\text{is}}}\right)_{\text{FIBRO}}$
0,3	55,0	0,701	0,868
0,5	41,9	0,485	0,547
0,7	35,2	0,403	0,428
1	26,9	0,321	0,329
2	16,9	0,222	0,217
5	8,3	0,155	0,148
10	4,8	0,125	0,116
20	2,7	0,101	0,086
50	1,3	0,078	0,060

Tableau IV-14 : Evolution des ratios DSB/SSB suite à une irradiation avec des alphas.

E (MeV)	TEL (keV/μm)	$\left(\frac{\text{DSB}}{\text{SSB}_{\text{is}}}\right)_{\text{ENDO}}$	$\left(\frac{\text{DSB}}{\text{SSB}_{\text{is}}}\right)_{\text{FIBRO}}$
5	88,6	0,330	0,315
10	53,4	0,245	0,242
15	39,3	0,212	0,210
17,5	34,9	0,202	0,200
25	26,4	0,166	0,186
50	15,2	0,160	0,151

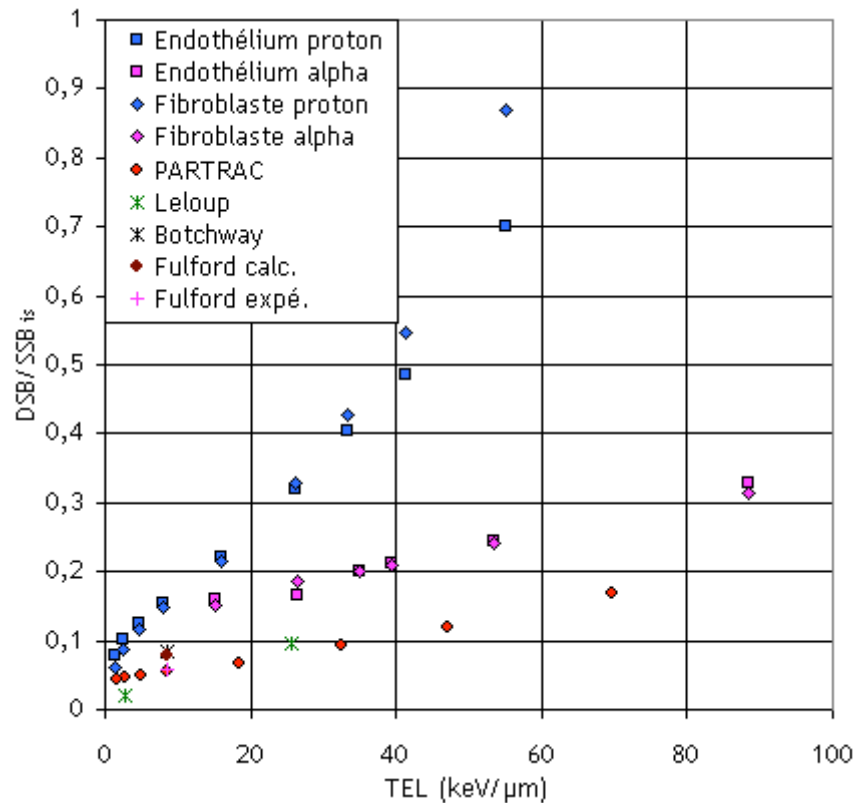


Figure IV-6 : Comparaison des ratios DSB/SSB_{is} pour des simulations protons et alphas réalisées au sein des deux noyaux cellulaires et comparés à des données extraites de la littérature.

Nos résultats montrent, en général, une augmentation linéaire du ratio avec l'augmentation du TEL de la particule incidente.

Concernant la différence entre les noyaux cellulaires pour un TEL et une particule donnée, de faibles différences sont observées entre ceux-ci excepté pour les protons de 55 keV/μm (protons de 0,3 MeV). En effet, pour ce TEL, le ratio DSB/SSB_{is} est plus élevé dans le noyau du fibroblaste, ceci pouvant être lié au fait que, d'une part, le nombre de SSB isolées sature voire diminue pour ce TEL et, d'autre part, pour ce TEL certains protons peuvent ne pas traverser intégralement le noyau du fait d'un parcours moyen de 4,9 μm alors que le fibroblaste a une épaisseur maximale en son centre de 5 μm.

Par contre, concernant l'influence de la qualité du rayonnement, nous pouvons observer un changement de comportement important au niveau de l'allure des graphes (figure IV-6). En effet, nous pouvons observer une pente beaucoup plus importante dans le cas des protons, ceci traduisant le fait que la proportion de clusters de type DSB est beaucoup plus importante suite à une irradiation avec des protons (pente de 0,0066 contre 0,0016 dans l'endothélium et 0,0082 contre 0,0014 pour le fibroblaste). Ceci est en accord avec les résultats obtenus sur la quantification du nombre de DSB et SSB que nous avons présentés dans les deux sections précédentes.

Concernant la comparaison de nos résultats à ceux extraits de la littérature, nous pouvons observer une surestimation des ratios DSB/SSB dans notre étude. Cette surestimation est liée au fait que seuls les effets directs des rayonnements ionisants sont pris en compte dans notre travail alors que dans les données extraites de la littérature les effets directs et indirects des rayonnements sont pris en compte. En effet, les effets indirects des rayonnements sont connus pour contribuer à l'augmentation du nombre de SSB isolées ou complexes, ainsi, avec la prise en compte des effets indirects, les ratios sont plus faibles que lorsque seuls les effets directs sont pris en compte.

Intéressons nous maintenant plus particulièrement à la comparaison de nos résultats obtenus suite aux simulations protons et aux résultats obtenus avec le code PARTRAC [FRI03], également pour des simulations avec des protons comme illustré sur la figure IV-7.

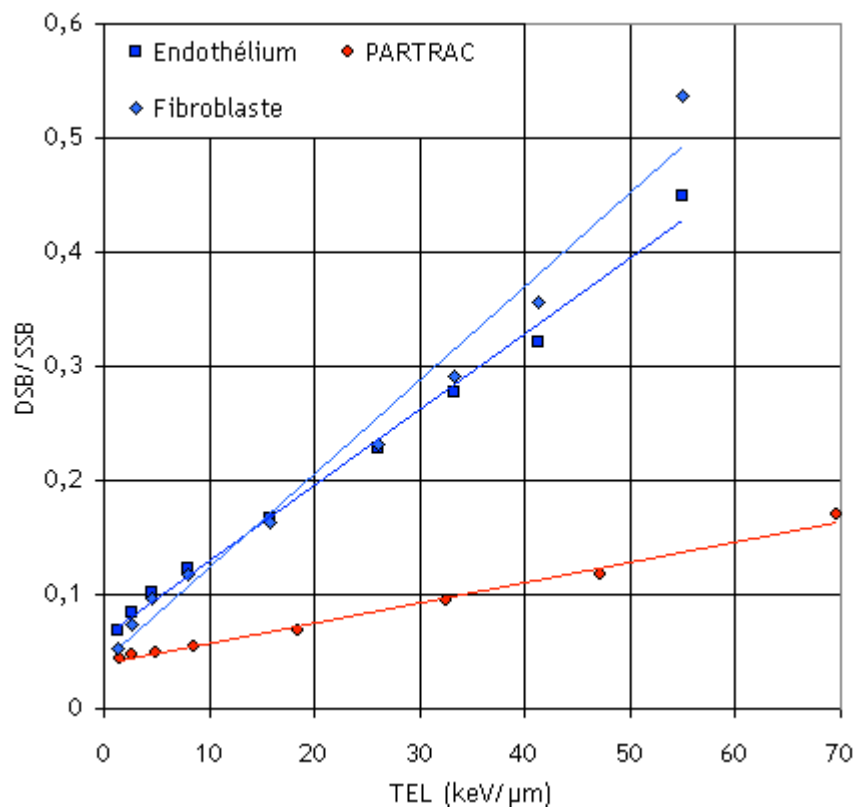


Figure IV-7: Evolution des ratios DSB/SSB_{tot} en fonction du TEL des protons et comparaison avec les données issues du code PARTRAC [FRI03].

Cette figure montre que, bien que seuls les dommages directs à l'ADN soient pris en compte dans notre cas, les ratios DSB/SSB augmentent linéairement avec le TEL comme dans les travaux réalisés avec le code PARTRAC [FRI03] où les dommages dus aux effets directs et indirects des rayonnements sont pris en compte.

Les ratios obtenus suite aux simulations avec PARTRAC sont plus faibles que les nôtres du fait de la prise en compte des effets indirects qui contribuent plus fortement à la formation de cassures

simples brins. Ces ratios augmentent linéairement avec l'augmentation du TEL et des pentes de 0,0066 et 0,0082 pour nos simulations respectivement dans l'endothélium et le fibroblaste contre une pente de 0,0018 pour les simulations avec le code PARTRAC.

Si l'on considère que les effets indirects des rayonnements ne contribuent que très faiblement à l'induction de dommages de types DSB, il est possible de déterminer des facteurs influant sur le nombre de SSB liés à la prise en compte des effets indirects des rayonnements en faisant le ratio entre les pentes obtenues dans nos simulations et la valeur de la pente obtenue dans les simulations réalisées avec le code PARTRAC. Si l'on considère que a est la pente obtenue suite à nos simulations et a' celle obtenue suite aux simulations avec le code PARTRAC on a :

$$\left(\frac{DSB}{a.SSB} \right)^{G4} = \left(\frac{DSB}{a'.SSB} \right)^{PARTARC} \Rightarrow \frac{a}{a'} \quad \text{facteur influant sur le nombre de SSB} \quad (IV.2)$$

Ces ratios sont de 3,7 et 4,6 soit environ un facteur 4 influant sur le nombre de SSB lors de la prise en compte des effets indirects des rayonnements.

IV.2.2 Complexité des dommages

Cette section reporte les résultats concernant la complexité des clusters, c'est-à-dire le nombre de dépôts d'énergie composant un cluster, obtenus suite aux simulations avec les protons et les alphas au sein des deux noyaux cellulaires. La section se divise en deux parties, la première concernant l'évaluation de la complexité des clusters de type DSB et la seconde celle des clusters de type SSB.

Dans chacune de ces parties la quantification du nombre de dommages par particule et par micromètre en fonction de la dimension du cluster et la proportion des clusters pour une dimension donnée ont été réalisées. Cette proportion correspond au pourcentage de clusters d'une certaine taille par rapport au nombre de clusters total.

IV.2.2.1 Complexité des candidates aux DSB

Les quatre tableaux suivants reportent les résultats concernant la quantification du nombre de candidats aux DSB par particule et par micromètre pour différentes tailles de cluster en fonction du TEL ainsi que la proportion que représente ces clusters par rapport au nombre de clusters total. Les tableaux IV-15 et IV-16 reportent les résultats obtenus suite aux modélisations avec les protons respectivement dans l'endothélium et le fibroblaste tandis que les tableaux IV-17 et IV-18 reportent les résultats concernant les modélisations alphas.

Tableau IV-15 : DSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans l'endothélium.

TEL (keV/μm)	Taille du cluster									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10
55,0	DSB/p/μm	0,495	0,512	0,445	0,351	0,287	0,206	0,139	0,101	0,074
	%	17,8	18,4	16	12,6	10,3	7,4	4,99	3,64	2,67
41,9	DSB/p/μm	0,496	0,465	0,363	0,250	0,164	0,103	0,067	0,043	0,026
	%	24,6	23,1	18	12,4	8,15	5,13	3,31	2,11	1,29
35,2	DSB/p/μm	0,464	0,407	0,279	0,189	0,114	0,069	0,042	0,026	0,013
	%	28,6	25,1	17,2	11,7	7,02	4,25	2,57	1,58	0,8
26,9	DSB/p/μm	0,377	0,305	0,204	0,119	0,074	0,042	0,021	0,012	0,005
	%	32,4	26,1	17,5	10,2	6,35	3,64	1,8	1,01	0,43
16,9	DSB/p/μm	0,239	0,172	0,095	0,056	0,028	0,015	0,007	0,004	0,002
	%	38,6	27,8	15,4	9,01	4,61	2,36	1,17	0,58	0,31
8,3	DSB/p/μm	0,105	0,066	0,034	0,018	0,009	0,006	0,002	0,001	$5 \cdot 10^{-4}$
	%	43,4	27,2	13,9	7,66	3,66	2,30	1,02	0,47	0,2
4,8	DSB/p/μm	0,053	0,030	0,016	0,010	0,004	0,002	0,001	$5 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$
	%	45,4	25,3	13,5	8,23	3,71	1,89	1,3	0,4	0,25
2,7	DSB/p/μm	0,026	0,015	0,008	0,004	0,002	0,001	$5 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
	%	45,7	25,8	14,1	7,35	3,66	1,78	0,9	0,34	0,13
1,3	DSB/p/μm	0,010	0,006	0,003	0,002	0,001	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$7 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$
	%	44,7	26,3	13,1	7,99	4,55	2,14	0,62	0,34	0,14

Tableau IV-16 : DSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le fibroblaste.

TEL (keV/μm)	Taille du cluster									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10
55,0	DSB/p/μm	0,124	0,131	0,125	0,110	0,090	0,075	0,060	0,046	0,036
	%	13,6	14,4	13,7	12,1	9,86	8,22	6,57	5,03	4,01
41,9	DSB/p/μm	0,155	0,151	0,123	0,088	0,065	0,041	0,028	0,020	0,013
	%	21,9	21,2	17,3	12,4	9,12	5,81	3,98	2,75	1,89
35,2	DSB/p/μm	0,152	0,137	0,104	0,070	0,044	0,031	0,019	0,011	0,006
	%	26,1	23,5	17,8	12	7,52	5,26	3,19	1,9	1,1
26,9	DSB/p/μm	0,132	0,105	0,071	0,042	0,025	0,015	0,008	0,005	0,002
	%	32,2	25,6	17,5	10,4	6,09	3,57	2,03	1,21	0,60
16,9	DSB/p/μm	0,075	0,054	0,032	0,018	0,009	0,005	0,003	0,001	$8 \cdot 10^{-4}$
	%	37,9	27,2	16,1	8,87	4,54	2,5	1,46	0,74	0,38
8,3	DSB/p/μm	0,034	0,021	0,012	0,006	0,003	0,002	0,001	$4 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$
	%	42,7	26,5	15,2	7,5	4,10	2,06	0,98	0,5	0,27
4,8	DSB/p/μm	0,018	0,010	0,006	0,003	0,001	$7 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-5}$
	%	45	25,3	14,4	7,62	3,75	1,89	1,10	0,53	0,22
2,7	DSB/p/μm	0,008	0,005	0,002	0,001	$7 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$
	%	44,1	27,1	12,8	7,61	4,02	2,63	0,86	0,48	0,16
1,3	DSB/p/μm	0,003	0,002	$8 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$
	%	46,5	25,0	13,1	7,69	3,89	2,18	0,76	0,47	0,47

Tableau IV-17 : DSB/ α / μ m et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans l'endothélium.

TEL (keV/ μ m)	Taille du cluster									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10
88,6	DSB/ α / μ m	0,822	0,650	0,439	0,268	0,162	0,094	0,056	0,029	0,017
	%	32,1	25,4	17,1	10,5	6,3	3,7	1,2	1,1	0,7
53,4	DSB/ α / μ m	0,543	0,389	0,236	0,141	0,074	0,041	0,023	0,011	0,005
	%	37,0	26,5	16,1	9,6	5,0	2,8	1,6	0,8	0,3
39,3	DSB/ α / μ m	0,385	0,265	0,157	0,089	0,048	0,026	0,013	0,006	0,003
	%	38,7	26,6	15,8	8,9	4,8	2,6	1,3	0,6	0,3
34,9	DSB/ α / μ m	0,338	0,230	0,137	0,077	0,040	0,021	0,011	0,006	0,003
	%	39,0	26,6	15,8	8,9	4,6	2,5	1,3	0,7	0,4
26,4	DSB/ α / μ m	0,243	0,160	0,096	0,053	0,029	0,013	0,008	0,004	0,001
	%	39,9	26,1	15,7	8,8	4,8	2,1	1,3	0,7	0,2
15,2	DSB/ α / μ m	0,117	0,079	0,044	0,022	0,017	0,007	0,002	0,002	$4 \cdot 10^{-4}$
	%	40,2	27,0	15,0	7,7	5,8	2,6	0,8	0,6	0,1

Tableau IV-18 : DSB/ α / μ m et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le fibroblaste.

TEL (keV/ μ m)	Taille du cluster									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10
88,6	DSB/ α / μ m	0,232	0,181	0,122	0,075	0,044	0,025	0,014	0,008	0,005
	%	32,5	25,4	17,1	10,6	6,2	3,6	2,0	1,2	0,7
53,4	DSB/ α / μ m	0,149	0,106	0,067	0,038	0,021	0,012	0,006	0,003	0,002
	%	36,6	26,0	16,5	9,6	5,2	2,9	1,6	0,8	0,4
39,3	DSB/ α / μ m	0,115	0,080	0,048	0,027	0,015	0,008	0,004	0,002	0,001
	%	38,1	26,5	16,0	9,1	5,1	2,7	1,4	0,6	0,3
34,9	DSB/ α / μ m	0,100	0,069	0,041	0,023	0,012	0,007	0,003	0,002	0,001
	%	39,0	26,9	15,9	8,8	4,5	2,6	1,2	0,7	0,4
26,4	DSB/ α / μ m	0,077	0,050	0,032	0,016	0,009	0,005	0,003	0,001	$4 \cdot 10^{-4}$
	%	39,9	25,9	16,5	8,4	4,5	2,5	1,4	0,5	0,2
15,2	DSB/ α / μ m	0,038	0,024	0,015	0,007	0,004	0,002	0,001	$4 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$
	%	41,3	25,8	16,5	8,1	4,1	1,7	1,3	0,4	0,3

Concernant la quantité de DSB par particule et par micromètre en fonction de la taille du cluster, ces résultats mettent en évidence que, quel que soit le type cellulaire et la qualité du rayonnement primaire (hormis pour les protons de 55 keV/ μm), pour un TEL donné, le nombre de DSB/particule/ μm diminue avec l'augmentation de la taille des clusters. Du fait de la limitation des dépôts d'énergie à prendre en compte grâce à la géométrie et du rayon de 3,2 nm (~10 bp) choisi dans les paramètres de clustérisation, la probabilité d'avoir un grand nombre de dépôts d'énergie localisés dans cette petite région est faible. Par conséquent, la probabilité d'avoir des clusters de faible complexité est plus grande que celle d'avoir des grands clusters et ceci est d'autant plus visible que la densité de la trace est faible c'est-à-dire pour les faibles TEL. De plus, les clusters avec des complexités très élevées résultent, la plupart du temps, de la fusion de clusters proches (> 3,2 nm) et ceci se produit principalement pour les traces des particules les plus denses.

Pour une taille donnée, nous pouvons également constater que le nombre de DSB/particule/ μm diminue avec le TEL du fait de la diminution de la densité de la trace.

Concernant l'influence du type cellulaire, nous pouvons observer que, quel que soit le type de particule, il y a toujours une plus grande quantité de dommages dans le noyau de l'endothélium et ceci quel que soit le TEL de la particule et la dimension du cluster. Ceci est en accord avec la section IV.2.1.1 où la quantité de DSB total était toujours plus grande au sein du noyau de l'endothélium.

Concernant la proportion des clusters pour une taille donnée par rapport au nombre de clusters total, globalement nous pouvons observer que pour un TEL donné, la proportion de clusters diminue avec l'augmentation de la complexité des clusters tout comme le nombre de DSB/particule/ μm . Ainsi, la plupart des clusters sont des clusters n'excédant pas une dizaine de dépôts d'énergie par cluster (< 90 %) quel que soit le noyau cellulaire et le type d'irradiation. Des clusters plus grands, allant jusqu'à une vingtaine de points par cluster peuvent être trouvés, mais ils sont très peu nombreux et ne se produisent que pour les TEL les plus élevés. De plus, comme nous l'avons mentionné plus haut, ces grands clusters résultent le plus souvent de la fusion de clusters plus petits et pourront ainsi avoir des rayons supérieurs à 3,2 nm qui est le rayon maximal déterminé dans les paramètres de clustérisation.

Enfin, la majorité des clusters décelés sont des clusters de petite taille. En effet, pour les simulations protons à bas TEL (1,3 à 16,9 keV/ μm) plus de 80 % des clusters sont des clusters composés de 2, 3 ou 4 dépôts d'énergie. Pour les TEL plus élevés, ces clusters représentent plus de 60 % des clusters. Concernant les simulations avec les alphas, nous pouvons constater que ces clusters représentent plus de 74 % du nombre total de clusters. Ceci est dû au fait que les traces ne sont pas très denses, il est donc plus facile de trouver des clusters de petite taille.

Cas particulier des protons de 55 keV/ μ m :

Pour le cas particulier des protons de 55,0 keV/ μ m ($E = 0,3$ MeV), nous pouvons observer que le nombre et la proportion de clusters composés de deux dépôts d'énergie sont plus faibles que ceux des clusters contenant trois dépôts d'énergie. Ensuite, l'évolution de la quantité et de la proportion des clusters est la même que pour les autres TEL, plus la taille du cluster augmente plus la quantité et la proportion des clusters diminuent. Le fait que l'on trouve plus de clusters de 3 points que de deux points est lié à la densité de la trace qui est très importante pour ce TEL. Les dépôts d'énergie de la trace sont très nombreux et rapprochés par conséquent la probabilité de trouver des clusters de plus de deux dépôts d'énergie est plus importante.

IV.2.2.2 Complexité des candidates aux dommages SSB

De la même manière que pour les candidats aux DSB, une étude sur la complexité des clusters simples, c'est-à-dire les candidats aux dommages SSB complexes, a été réalisée. Ainsi, les tableaux IV-19 à IV-22 reportent les résultats concernant la quantification et la proportion de ces dommages par particule et par micromètre pour les deux types d'irradiation et les deux noyaux cellulaires.

Tableau IV-19 : SSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans l'endothélium.

TEL (keV/μm)	Taille du cluster							
		2	3	4	5	6	7	8
55,0	SSB/p/μm	1,153	0,549	0,264	0,135	0,067	0,037	0,016
	%	51,5	24,5	11,8	6,02	2,98	1,65	0,70
41,9	SSB/p/μm	1,215	0,513	0,224	0,095	0,046	0,021	0,010
	%	56,8	24,0	10,5	4,46	2,15	1,00	0,47
35,2	SSB/p/μm	1,067	0,430	0,185	0,073	0,032	0,012	0,006
	%	58,8	26,7	40,2	4,00	1,78	0,65	0,35
26,9	SSB/p/μm	0,914	0,336	0,129	0,049	0,019	0,008	0,003
	%	62,4	22,9	8,8	3,35	1,30	0,55	0,21
16,9	SSB/p/μm	0,636	0,199	0,068	0,022	0,009	0,003	0,001
	%	67,8	21,2	7,20	2,36	0,93	0,30	0,12
8,3	SSB/p/μm	0,293	0,081	0,027	0,009	0,003	0,001	5.10 ⁻⁴
	%	70,5	19,4	6,5	2,17	0,79	0,25	0,11
4,8	SSB/p/μm	0,158	0,041	0,013	0,005	0,002	5.10 ⁻⁴	2.10 ⁻⁴
	%	71,8	18,8	5,95	2,22	0,76	0,22	0,08
2,7	SSB/p/μm	0,081	0,020	0,007	0,002	0,001	2.10 ⁻⁴	2.10 ⁻⁵
	%	72,6	18,3	5,95	2,20	0,80	0,20	0,01
1,3	SSB/p/μm	0,029	0,007	0,002	0,001	3.10 ⁻⁴	6.10 ⁻⁵	3.10 ⁻⁵
	%	75,5	17,6	4,85	2,13	0,75	0,15	0,08

Tableau IV-20 : SSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le fibroblaste.

TEL (keV/μm)	Taille du cluster							
		2	3	4	5	6	7	8
55,0	SSB/p/μm	0,288	0,152	0,087	0,050	0,031	0,017	0,011
	%	44,2	23,3	13,4	7,63	4,71	2,66	1,63
41,9	SSB/p/μm	0,382	0,168	0,076	0,034	0,017	0,009	0,005
	%	55,0	24,2	11,0	4,86	2,52	1,25	0,66
35,2	SSB/p/μm	0,377	0,152	0,064	0,027	0,013	0,006	0,002
	%	58,7	23,7	9,89	4,18	1,99	0,92	0,31
26,9	SSB/p/μm	0,321	0,119	0,047	0,021	0,007	0,003	0,001
	%	61,7	23,0	9,10	3,95	1,32	0,57	0,28
16,9	SSB/p/μm	0,200	0,063	0,023	0,008	0,003	0,001	4.10 ⁻⁴
	%	66,9	21,2	7,71	2,59	0,87	0,36	0,13
8,3	SSB/p/μm	0,096	0,027	0,009	0,003	0,001	5.10 ⁻⁴	2.10 ⁻⁴
	%	70,5	19,5	6,64	2,35	0,83	0,36	0,07
4,8	SSB/p/μm	0,051	0,014	0,004	0,001	5.10 ⁻⁴	2.10 ⁻⁴	8.10 ⁻⁵
	%	71,4	19,2	6,21	2,03	0,74	0,28	0,11
2,7	SSB/p/μm	0,024	0,006	0,002	9.10 ⁻⁴	3.10 ⁻⁴	8.10 ⁻⁵	3.10 ⁻⁵
	%	71,3	17,9	6,18	2,59	0,77	0,25	0,08
1,3	SSB/p/μm	0,008	0,002	7.10 ⁻⁴	3.10 ⁻⁴	1.10 ⁻⁴	3.10 ⁻⁵	2.10 ⁻⁵
	%	73,7	20,5	6,14	2,61	0,97	0,26	0,21

Tableau IV-21 : SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$ et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans l'endothélium.

TEL (keV/ μm)	Taille du cluster							
		2	3	4	5	6	7	8
88,6	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	1,843	0,650	0,252	0,096	0,038	0,015	0,006
	%	63,5	22,4	8,69	3,29	1,32	0,51	0,22
53,4	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	1,280	0,423	0,153	0,060	0,021	0,009	0,003
	%	65,6	21,7	7,86	3,07	1,09	0,46	0,15
39,3	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,962	0,301	0,109	0,042	0,016	0,007	0,002
	%	66,9	20,9	7,58	2,90	1,10	0,46	0,15
34,9	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,867	0,269	0,096	0,035	0,013	0,005	0,002
	%	67,4	20,9	7,26	2,70	1,03	0,39	0,15
26,4	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,623	0,190	0,068	0,023	0,009	0,003	0,001
	%	67,8	20,8	7,43	2,56	0,95	0,32	0,12
15,2	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,327	0,094	0,035	0,013	0,005	$9 \cdot 10^{-4}$	0,001
	%	68,8	19,8	6,82	2,77	1,13	0,18	0,29

Tableau IV-22 : SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$ et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le fibroblaste.

TEL (keV/ μm)	Taille du cluster							
		2	3	4	5	6	7	8
88,6	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,532	0,189	0,073	0,030	0,011	0,005	0,002
	%	63,1	22,4	8,70	3,50	1,36	0,54	0,21
53,4	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,357	0,117	0,043	0,017	0,006	0,002	$9 \cdot 10^{-4}$
	%	65,7	21,5	7,87	3,22	1,05	0,42	0,16
39,3	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,284	0,091	0,033	0,012	0,005	0,001	$8 \cdot 10^{-4}$
	%	66,3	21,2	7,74	2,86	1,15	0,34	0,18
34,9	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,257	0,080	0,030	0,010	0,004	0,002	$6 \cdot 10^{-4}$
	%	66,9	20,9	7,75	2,77	1,02	0,41	0,14
26,4	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,198	0,062	0,020	0,009	0,003	0,001	$3 \cdot 10^{-4}$
	%	67,2	21,1	7,05	2,99	0,88	0,47	0,09
15,2	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,107	0,029	0,010	0,003	0,002	$6 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-5}$
	%	70,2	19,1	6,88	2,09	1,20	0,42	0,05

Concernant la complexité des dommages de type SSB, les mêmes conclusions que sur la quantification et la proportion relative des clusters DSB ont été observées.

Bien que le comportement global soit le même, nous pouvons observer une différence majeure entre les deux types de dommages. En effet, dans le cas des dommages de type SSB, la proportion de petits clusters est encore plus importante. Plus de 90 % des clusters sont des clusters composés de 2, 3 ou 4 dépôts d'énergie, ainsi les clusters trouvés n'excèdent que très rarement ces dimensions, ils sont donc moins complexes que les candidats aux DSB. Ceci est lié au fait que, plus les clusters sont complexes, plus la probabilité d'avoir des dépôts d'énergie localisés sur les deux brins opposés est grande. Ceci est en accord avec les résultats de la section précédente sur la quantification des dommages SSB où l'on observait l'apparition d'un palier de saturation pour les protons de haut TEL. Par conséquent, les candidats aux dommages DSB conduisent à des dommages plus complexes que ceux de type SSB.

IV.2.3 Evaluation des rayons des clusters

Intéressons nous maintenant à l'étude des rayons des clusters. Dans un premier temps, le rayon moyen des clusters a été calculé et l'évolution de la taille de ces rayons en fonction de l'énergie des particules primaires a été étudiée. Ensuite l'évaluation de la taille moyenne des clusters en fonction de la dimension de ceux-ci a été étudiée. Les résultats présentés dans les sections qui suivent ne concernent que les simulations mettant en jeu des protons au sein des deux noyaux cellulaires pour lesquelles davantage d'énergies différentes ont été simulées. Néanmoins, la même étude a été réalisée pour des simulations avec des alphas et les mêmes conclusions ont été obtenues (cf. annexe A).

IV.2.3.1 Rayon moyen des clusters

Dans un premier temps nous avons estimé la valeur moyenne des rayons des clusters obtenus à l'aide de l'algorithme de clustérisation. En effet, bien que le rayon soit défini à 3,2 nm dans les paramètres de clustérisation (RMS), en fonction de la position des dépôts d'énergie, des clusters ayant des rayons plus petits ou plus grands (fusion de clusters) peuvent être détectés.

Ainsi, le tableau IV-23 reporte les rayons moyens des clusters (SSB complexes et DSB) obtenus dans les deux noyaux cellulaires en fonction du TEL des protons primaires.

Tableau IV-23 : Rayon moyen des clusters en fonction du type cellulaire et du TEL des protons.

E (MeV)	TEL (keV/μm)	Rayon moyen des SSB (nm)		Rayon moyen des DSB (nm)	
		Endothélium	Fibroblaste	Endothélium	Fibroblaste
0,3	55,0	0,562	0,576	1,293	1,346
0,5	41,9	0,532	0,545	1,197	1,252
0,7	35,2	0,528	0,538	1,163	1,205
1	26,9	0,508	0,518	1,127	1,139
2	16,9	0,473	0,481	1,074	1,077
5	8,3	0,453	0,455	1,036	1,037
10	4,8	0,443	0,438	1,029	1,011
20	2,7	0,431	0,436	1,010	1,022
50	1,3	0,417	0,461	1,007	1,028

Ces résultats mettent en évidence que le rayon moyen du cluster augmente avec le TEL pour les deux types de dommages et pour les deux noyaux cellulaires. Ceci était attendu étant donné que la densité de la trace augmente avec l'augmentation du TEL, par conséquent la probabilité de trouver des clusters avec plus de deux points augmente et plus les clusters contiennent de dépôts d'énergie plus ils ont de chance d'avoir un rayon élevé.

Nous pouvons constater que, pour un TEL donné, les rayons des clusters de type DSB sont plus grands que ceux de type SSB, ce qui était attendu. En effet, la formation de cluster de type DSB nécessite la localisation de dépôts d'énergie sur les deux brins de notre ADN, ces dépôts d'énergie sont donc automatiquement plus éloignés que ceux qui contribuent aux dommages SSB car ils sont localisés sur le même brin.

IV.2.3.2 Proportion des clusters DSB en fonction de leur dimension

Dans un second temps, l'évaluation de la répartition des clusters en fonction de leur rayon pour une énergie donnée a été réalisée. Pour cela nous avons calculé la proportion des clusters par rapport au nombre de clusters total pour chaque dimension du rayon (figure IV-8 et IV-9). Pour aider à la visualisation du comportement en fonction de l'énergie seulement quatre énergies ont été reportées sur ces deux figures.

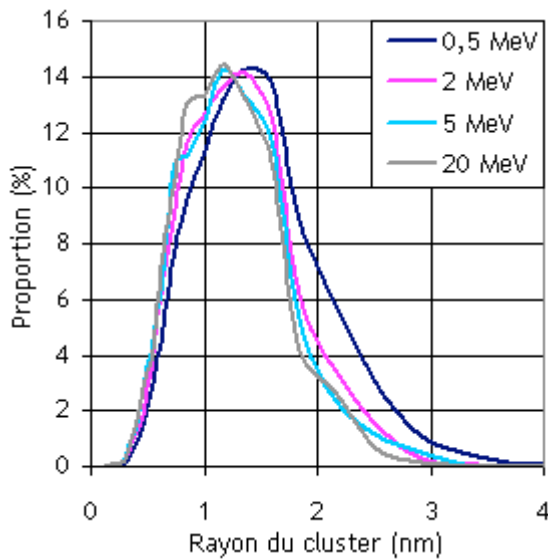


Figure IV-8 : Evolution des rayons moyens des clusters en fonction de l'énergie des protons initiaux dans l'endothélium.

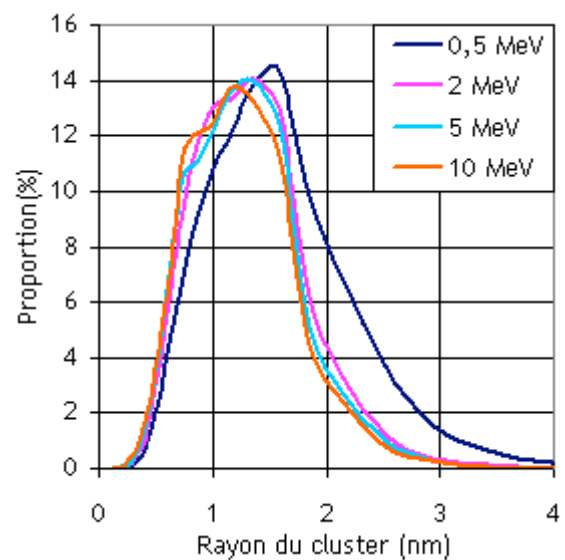


Figure IV-9 : Evolution des rayons moyens des clusters en fonction de l'énergie des protons initiaux dans le fibroblaste.

Bien que le rayon soit fixé à 3,2 nm dans les paramètres de clustérisation, le plus souvent ce sont des clusters ayant des rayons plus petits qui sont trouvés du fait de la limitation des dépôts d'énergie sélectionnés grâce à la géométrie.

Ces résultats montrent également que, pour les deux noyaux cellulaires, avec l'augmentation de l'énergie, c'est-à-dire la diminution du TEL, le maximum de chacune de ces courbes se décale vers la gauche c'est-à-dire que le rayon des clusters diminue. Ceci est en accord avec les résultats obtenus dans la section précédente où nous avons observé une diminution du rayon moyen du cluster avec la diminution du TEL étant donné que la complexité des clusters diminue.

De plus, peu de clusters ont des rayons supérieurs à 3,2 nm, ce qui veut dire que peu de clusters sont assez proches pour pouvoir fusionner et donc conduire à des clusters ayant des rayons plus grands. De plus, ce phénomène de fusion se produit essentiellement pour les protons ayant les TEL les plus élevés, c'est-à-dire lorsque la trace est la plus dense.

Enfin, nous pouvons observer que la répartition de la taille des clusters à une forme parabolique avec une queue vers les rayons les plus élevés. La largeur de cette parabole diminue avec la diminution du TEL, tout comme cette queue. Ainsi, il y a moins de dispersion au niveau de la dimension des rayons avec la diminution du TEL, pouvant également traduire le fait qu'il y a moins de fusion de clusters. Ceci est également dû au fait qu'avec la diminution du TEL, les clusters sont moins complexes c'est-à-dire qu'ils sont composés de moins de dépôts d'énergie, par conséquent ils ont une forte probabilité d'être de petite dimension.

IV.2.3.3 Dimension des clusters DSB en fonction de leur complexité

Enfin, la dernière partie de cette section concernant l'étude des rayons des clusters, a consisté à étudier le rayon moyen des DSB en fonction de la complexité de celles-ci, c'est-à-dire en fonction du nombre de points composant ce type de dommage. Comme les résultats obtenus dans le fibroblaste et l'endothélium ont la même tendance, seuls les résultats concernant le fibroblaste ont été reportés dans cette section. Ainsi, le tableau IV-24 reporte les dimensions moyennes (en nm) des rayons des DSB en fonction de la complexité de ceux-ci et du TEL des protons initiaux. Les deux TEL les plus faibles (1,3 et 4,2 keV/ μm) n'ont pas été reportés ici car la quantité de clusters complexes pour une taille donnée est faible, par conséquent la statistique n'était pas suffisante pour évaluer correctement la dimension moyenne des dommages.

Tableau IV-24 : Evolution du rayon moyen (nm) des DSB en fonction de leurs complexités dans le noyau du fibroblaste.

Taille du cluster TEL (keV/ μm)	2	3	4	5	6	7	8	9	10
55,0	0,958	1,071	1,145	1,234	1,316	1,414	1,475	1,607	1,694
41,9	0,940	1,075	1,201	1,307	1,428	1,530	1,635	1,740	1,877
35,2	0,947	1,079	1,201	1,334	1,444	1,546	1,635	1,811	1,812
26,9	0,926	1,071	1,185	1,299	1,439	1,545	1,656	1,747	1,837
16,9	0,922	1,058	1,139	1,250	1,373	1,535	1,542	1,500	1,562
8,3	0,900	1,036	1,128	1,233	1,289	1,475	1,489	1,600	1,741
4,8	0,890	1,000	1,109	1,180	1,304	1,436	1,463	1,701	1,729

Ces résultats montrent que, quel que soit le TEL et le noyau cellulaire considéré, le rayon moyen des DSB augmente avec leur complexité.

Ces résultats montrent également que, quel que soit la complexité des DSB, le rayon moyen augmente avec la diminution du TEL jusqu'à atteindre un maximum autour de 35 keV/ μm puis diminue lorsque le TEL continue de diminuer. Ce phénomène est lié à la topologie des électrons secondaires émis suite au passage de la particule primaire. En effet, avec l'augmentation du TEL, la quantité des électrons secondaires émis est plus importante mais ces électrons déposent leur énergie plus près de la trace primaire. Ainsi, toute la pénombre de la trace primaire peut être prise en compte pour les TEL les plus élevés, les dimensions des clusters vont alors atteindre un maximum puis diminuer. Nous verrons que ces résultats ont la même allure que celle de l'évolution des EBR

en fonction du TEL et que la probabilité qu'à une trace d'un rayonnement ionisant d'interagir dans la cible d'ADN (cf. section IV.4).

IV.2.4 Conclusions sur la section

Cette section a été dédiée à la mise en évidence de l'influence de la densité d'ADN ainsi que de celle du type d'irradiation au sein de nos deux noyaux cellulaires sur le nombre et la complexité des dommages obtenus.

Ce travail nous a permis de mettre en évidence que la densité d'ADN au sein des noyaux cellulaires influence le nombre de dommages induits dans l'ADN. En effet, au sein de notre géométrie endothélium, quel que soit le TEL de la particule primaire, la quantité de dommages (DSB ou SSB) est toujours plus importante que dans le fibroblaste. De plus, concernant la complexité de ces dommages, pour chaque dimension de cluster, il y a toujours plus de dommages dans le cas de l'endothélium. Les différences rencontrées entre les deux noyaux cellulaires au niveau du nombre et de la complexité des dommages sont principalement dues à l'inhomogénéité de la cible au niveau nanométrique. *Ainsi, ces résultats peuvent suggérer que, la densité d'ADN, liée au type cellulaire, pourrait avoir une influence sur la capacité des processus de réparation et risquerait d'entraîner une augmentation des aberrations chromosomiques radio-induites ou de la mort cellulaire.*

Concernant le type d'irradiation, nous avons pu observer que pour un TEL donné, les simulations avec des protons conduisent à un plus grand nombre de dommages et que ces dommages sont également plus complexes. *Ainsi, tout comme la densité d'ADN, le type d'irradiation semble également avoir une influence sur le type des dommages produits et suggère que des dommages issus d'irradiations avec des protons seront plus difficilement réparables étant donné qu'ils sont plus nombreux et plus complexes.*

Enfin, concernant l'étude sur le rayon des clusters nous avons pu observer que, le rayon moyen des clusters (SSB ou DSB) augmente avec l'augmentation du TEL et que les clusters de types DSB sont toujours plus grands que ceux de type SSB. Nous avons également pu montrer que la majorité des clusters ont des dimensions inférieures au RMS déterminé dans les paramètres de clusterisation et que les clusters ayant des dimensions supérieures à 3,2 nm résultent de la fusion de clusters et ne se produisent que pour les TEL les plus élevés. Enfin, concernant les dimensions des DSB en fonction de leurs complexités, nous avons observé que pour une complexité donnée, la dimension du rayon augmente avec le TEL jusqu'à atteindre un maximum à 30-35 keV/μm puis diminue, ceci étant lié à la topologie de la trace et plus particulièrement aux électrons secondaires générés.

IV.3 Evolution des dommages en fonction de la dose

Cette section est dédiée à l'étude des candidats aux dommages de type DSB obtenus pour une dose donnée et par micromètre au sein des deux noyaux cellulaires pour des simulations réalisées avec des protons.

Pour le calcul de ces dommages pour une dose donnée nous avons choisi de distinguer deux cas. Le premier cas est celui correspondant à des expériences de radiobiologie réalisées avec un microfaisceau de particules. Dans cette configuration les cellules sont irradiées une par une avec contrôle individuel des particules tirées et toujours en utilisant un nombre très réduit de particules. Ainsi, les traces sont indépendantes, spatialement et temporellement, les unes des autres et si l'on souhaite évaluer un nombre de dommages pour une dose donnée il est légitime de multiplier le nombre de DSB/p/μm obtenu dans la section IV.2.1.1 par le nombre de traces nécessaires pour obtenir cette dose ($1 \text{ Gy} = X \text{ traces} * \text{DSB/p/}\mu\text{m}$). Ainsi, dans ce cas précis les traces sont traitées indépendamment les unes des autres lors de la clusterisation à l'aide de l'algorithme. Le second cas correspond à des irradiations réalisées avec des faisceaux de particules où la fluence est beaucoup plus importante et la dose absorbée est délivrée en quelques minutes. En effet, il nous faudra donc un temps donné pour obtenir la dose voulue et comme nous l'avons vu dans le premier chapitre de cette thèse, différents mécanismes physique, chimique et biologique se produisent avant l'apparition des effets biologiques considérés, ici les cassures double brin de l'ADN visualisable dans les expériences de radiobiologie environ 20-30 minutes après irradiation, Il n'est donc pas possible de traiter les traces indépendamment les unes des autres. Ainsi, il est nécessaire de définir le nombre de traces nécessaires pour obtenir une dose donnée et de traiter toutes ces traces ensemble lors de la clusterisation avec l'algorithme.

Dans un premier temps il a donc été nécessaire d'évaluer le nombre moyen de traces nécessaires pour obtenir 1 Gy dans nos noyaux cellulaires (tableau IV-25). Pour cela, des simulations avec des protons dans des noyaux homogènes d'eau ont été réalisées et, à partir de là, l'énergie moyenne déposée dans le noyau par trace a pu être calculée. En évaluant la dose moyenne déposée par trace il a alors été possible de remonter au nombre moyen de protons nécessaires pour obtenir 1 Gray. Notons également, qu'une dose de 1 Gy dans le noyau cellulaire ne correspond pas forcément à une dose de 1 Gy dans la molécule d'ADN. En effet, bien que l'ADN soit réparti de manière homogène dans tout le volume, l'ADN ne représente qu'une faible proportion du volume total du noyau et il y a une hétérogénéité au niveau nanométrique de celui-ci de par sa forme condensée en fibre et boucle de chromatine. Par conséquent tous les dépôts d'énergie ne vont pas être localisés dans celui-ci et toutes les traces simulées ne vont pas non plus forcément atteindre l'ADN (cf. section IV.).

Tableau IV-25 : Nombre de traces nécessaires pour obtenir 1 Gy dans les noyaux cellulaires.

E (MeV)	TEL (keV/ μ m)	Traces/Gy endothélium	Traces/Gy fibroblaste
0,3	55,0	26	34
0,5	41,9	35	46
0,7	35,2	41	56
1	26,9	53	76
2	16,9	89	129
5	8,3	179	263
10	4,8	321	453
20	2,7	595	841
50	1,3	1409	1970

D'après ces résultats, nous pouvons observer que, avec la diminution du TEL, le nombre de traces nécessaires pour obtenir une dose donnée augmente considérablement. La différence entre les noyaux vient du fait que le noyau du fibroblaste est plus volumineux (masse plus importante) que celui de l'endothélium et la différence dans le parcours ne compense pas cette différence du fait que les noyaux sont irradiés de manière perpendiculaire.

Une fois le nombre de traces nécessaires pour obtenir une dose donnée calculé, nous avons évalué le nombre de dommages de types DSB par Gray et par micromètre dans nos deux noyaux cellulaires en utilisant les deux méthodes décrites précédemment (traitement des traces ensembles ou séparément pour une dose donnée). Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau IV-26 et une représentation graphique de ces résultats est reportée sur la figure IV-10.

Tableau IV-26 : DSB/Gy/ μm en fonction du type cellulaire et du traitement des traces séparément ou ensemble.

E (MeV)	TEL (keV/ μm)	Endothélium		Fibroblaste	
		Séparément	Ensemble	Séparément	Ensemble
0,3	55,0	72,40	72,46	31,16	31,29
0,5	41,9	70,53	70,75	32,70	32,82
0,7	35,2	66,42	66,69	32,60	32,78
1	26,9	61,75	62,17	31,08	31,31
2	16,9	55,17	55,52	25,57	25,93
5	8,3	43,39	44,25	20,72	21,62
10	4,8	37,75	38,98	17,77	19,37
20	2,7	33,54	36,82	14,70	17,53
50	1,3	29,74	36,55	11,67	17,18

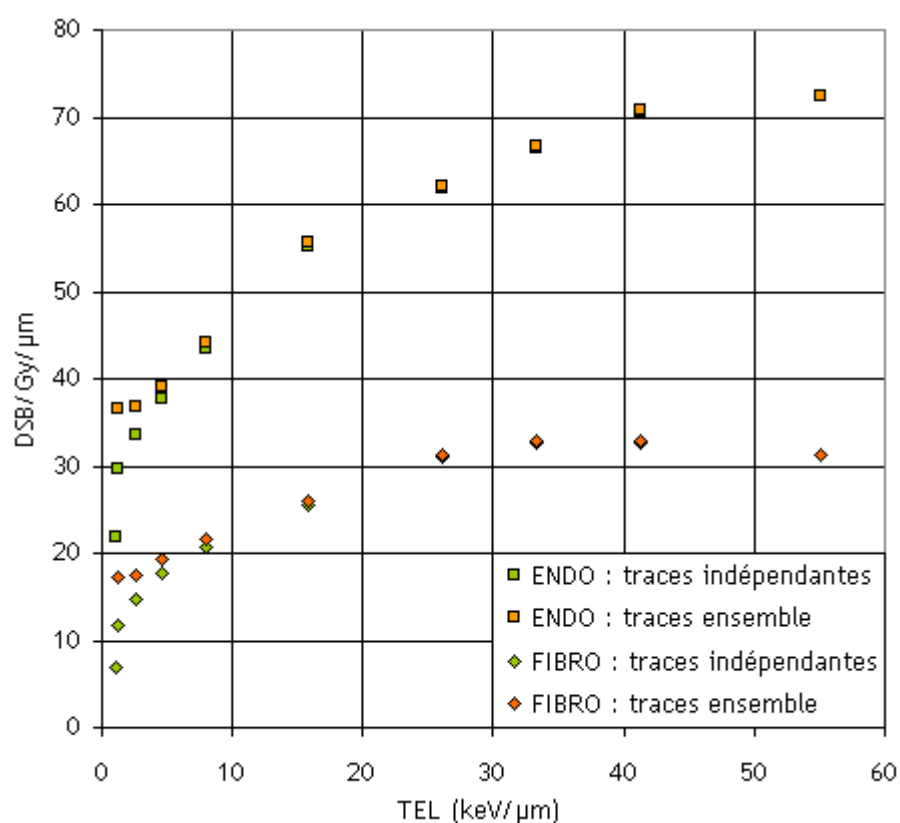


Figure IV-10 : Evolution du nombre de DSB par Gray et par micromètre pour les protons. Les carrés correspondent aux résultats obtenus dans l'endothélium et les losanges ceux obtenus dans le fibroblaste. En orange sont représentées les traces traitées ensemble et en vert celles traitées de manière indépendante.

Concernant l'allure globale de ces résultats, pour les deux méthodes, le nombre de DSB/Gy/ μm augmente avec le TEL jusqu'à atteindre un palier, voire diminuer, pour les plus hauts TEL. L'apparition de ce palier peut être lié au fait que, pour les TEL les plus élevés, nous avons une saturation du nombre de DSB par rapport au TEL qui n'était pas forcément visible pour une trace (section IV.2.) mais, comme pour obtenir une dose donnée il est nécessaire d'avoir plusieurs traces, cet effet est multiplié et par conséquent plus visible. De plus, ce palier de saturation est d'autant plus visible dans le noyau du fibroblaste car son épaisseur est plus importante et que certaines particules peuvent ne pas traverser intégralement le noyau.

En s'intéressant à la méthode choisie pour déterminer le nombre de dommages par Gray, d'après ces résultats nous pouvons observer que pour les TEL les plus élevés (supérieurs à 20 keV/ μm), les résultats obtenus par les deux méthodes sont semblables.

Néanmoins, lorsque le TEL diminue et qu'il devient faible (TEL inférieur à 8 keV/ μm , à partir de plus de 300 traces/Gy), nous pouvons observer que le fait de traiter les traces ensemble lors de la clustérisation fait apparaître un palier de saturation alors que par l'autre méthode le nombre de dommage par dose continue à diminuer. Ceci traduisant le fait que, à cause du grand nombre de traces nécessaires pour obtenir une dose donnée, les traces ne sont plus indépendantes lors de la clustérisation et les dommages contiennent des dépôts d'énergie de différentes particules initiales. Par conséquent, la probabilité d'avoir des dépôts d'énergie assez proches pour pouvoir conduire à des cassures double brin de l'ADN ne diminue plus.

Ainsi cette étude a permis de mettre en évidence que la manière de déterminer le nombre de dommages par Gray a une influence sur les résultats des dommages à l'ADN pour une dose donnée à partir d'une énergie de 10 MeV pour les protons. Ce paramètre apparaît donc comme un paramètre non négligeable à prendre en compte lors de la détermination des dommages pour une dose donnée bien que dans certaines études, où le nombre de dommages est donné par Gray et par dalton, cet effet n'est pas pris en compte et l'on observe une évolution linéaire du nombre de DSB/Gbp/Gy avec le TEL [FRI03].

IV.4 Etude de la relation EBR par rapport au TEL avec une approche nanométrique

Comme nous l'avons vu précédemment, ce travail de thèse est consacré à l'étude des cassures de brins de l'ADN dues aux effets directs des rayonnements ionisants. Néanmoins, dans la littérature de nombreuses études ont été dédiées aux conséquences des rayonnements ionisants sur le devenir de la cellule en étudiant des effets biologiques à l'échelle macroscopique, tel que la mort cellulaire par exemple. Ces études reposent sur l'évaluation de l'EBR, qui sont des grandeurs complexes car dépendantes de plusieurs facteurs comme le TEL et la dose absorbée, le type de particule et son énergie ainsi que le système biologique et l'effet biologique considérés. Pour illustrer ceci, la figure IV-11 extraite de la publication de Jakel et al. [JAK08] reporte l'évolution des EBR, pour l'inactivation cellulaire, en fonction du TEL :

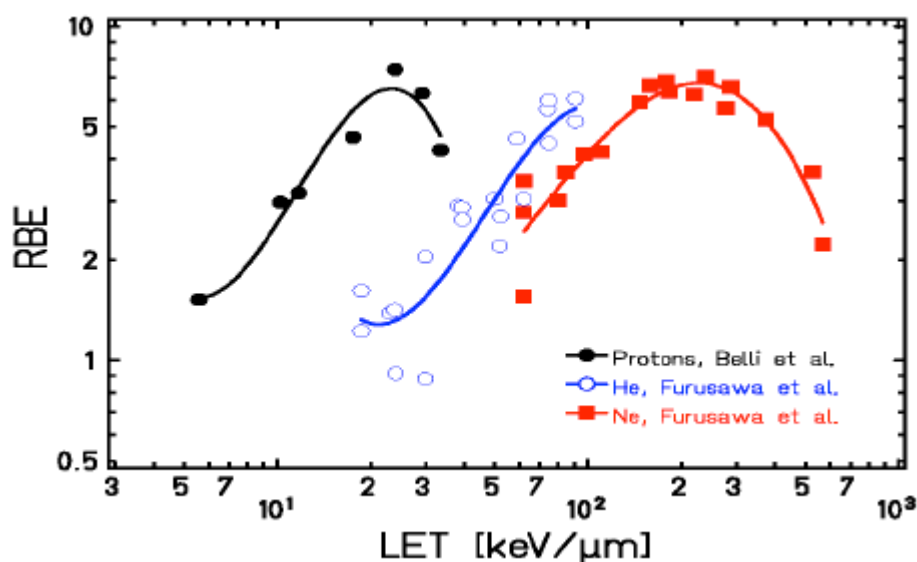


Figure IV-11 : Evolution de l'EBR en fonction du TEL pour proton, alpha et néon [JAK08].

Cette figure met en évidence que, pour les trois types de particule (protons, He et Ne), les EBR augmentent avec le TEL des particules primaires jusqu'à atteindre un maximum puis diminuent. Dans ces différents travaux, ce maximum est expliqué par le fait d'une saturation dans le nombre de lésions au niveau de l'ADN d'une taille de 5-10 nm. En effet, une augmentation du TEL augmente la densité du nombre des dépôts d'énergie mais à partir d'un certain TEL, bien que le nombre de dépôts continuent d'augmenter, ces dépôts sont suffisamment proches pour ne pas augmenter le nombre total de clusters. Ainsi, ce volume (5-10 nm) est assez grand pour contenir tous les dépôts d'énergie ou presque de la trace (en largeur) et ainsi, le nombre de clusters résultant présente un maximum autour de cette valeur. Ceci est lié aux spectres des électrons secondaires qui sont créés suite au passage de la particule primaire. En effet, plus le TEL augmente plus il y a d'électrons secondaires produits mais peu d'énergie leur est communiquée. Par conséquent ils déposent cette

énergie à proximité de la trace primaire. Par conséquent la trace est plus compacte et un rayon de 10 nm peut contenir tous les dépôts d'énergie ou presque (coupe transverse). Inversement, à bas TEL, les électrons créés sont moins nombreux mais ils ont des libres parcours moyens plus importants et ils déposent cette énergie plus loin de la trace primaire.

Concernant la comparaison des EBR des protons et des alphas pour un même TEL, il a été montré que celui-ci est plus élevé dans le cas des protons [BEL98, PAG02, JAK08, ELS10]. Ceci semble être directement lié à la structure de la trace au niveau nanométrique qui a été décrite dans la section IV.2 (figure IV-3 et IV-4) où, pour un même TEL, une quantité plus importante de dommages, également plus complexes, était obtenue suite aux simulations avec les protons et donc les EBR sont plus élevés (nécessité de moins de dose absorbée pour le même effet biologique).

Aux vues des résultats de ces EBR et de leurs comportements avec le TEL, nous avons voulu étudier de manière quantitative quels sont les paramètres, dans la description nanométrique de l'interaction entre la trace des particules et la cible d'ADN qui sont pertinents pour l'étude des effets biologiques. Ainsi, dans un premier temps, nous avons évalué la probabilité d'intersection de la trace de la particule avec notre cible d'ADN puis, dans un second temps, nous avons évalué l'influence du paramètre RMS, déterminé dans les paramètres de clustérisation, pour la détermination des dommages radio-induits.

IV.4.1 Probabilité d' intersection entre la trace des particules et la cible d' ADN

Dans un premier temps nous avons évalué la probabilité que les dépôts d'énergie du rayonnement ionisant interceptent la partie sensible aux cassures de notre cible d'ADN (squelette) en simulant un grand nombre d'événements. Ces résultats, obtenus suite à des simulations proton et alpha, sont reportés dans les tableaux IV-27 et IV-28, une représentation graphique de ceux-ci est également reportée sur la figure IV-12.

Tableau IV-27 : Pourcentage d'interaction dans l'ADN pour les simulations proton.

E (MeV)	TEL (keV/ μ m)	Endothélium	Fibroblaste
0,3	55,0	30,6	42,5
0,5	41,9	34,5	44,6
0,7	35,2	36,2	47,9
1	26,9	38,1	50,1
2	16,9	39,1	49,2
5	8,3	35,2	46,6
10	4,8	30,5	40,7
20	2,7	26,3	32,6
50	1,3	18,4	20,1

Tableau IV-28 : Pourcentage d'interaction dans l'ADN pour les simulations alpha.

E (MeV)	TEL (keV/ μ m)	Endothélium	Fibroblaste
2	162,5	38,9	57,6
5	88,6	48,5	61,7
10	53,4	51,0	63,3
15	39,3	50,7	63,4
17,5	34,9	50,8	63,0
25	26,4	50,8	62,6
50	15,2	45,5	56,4

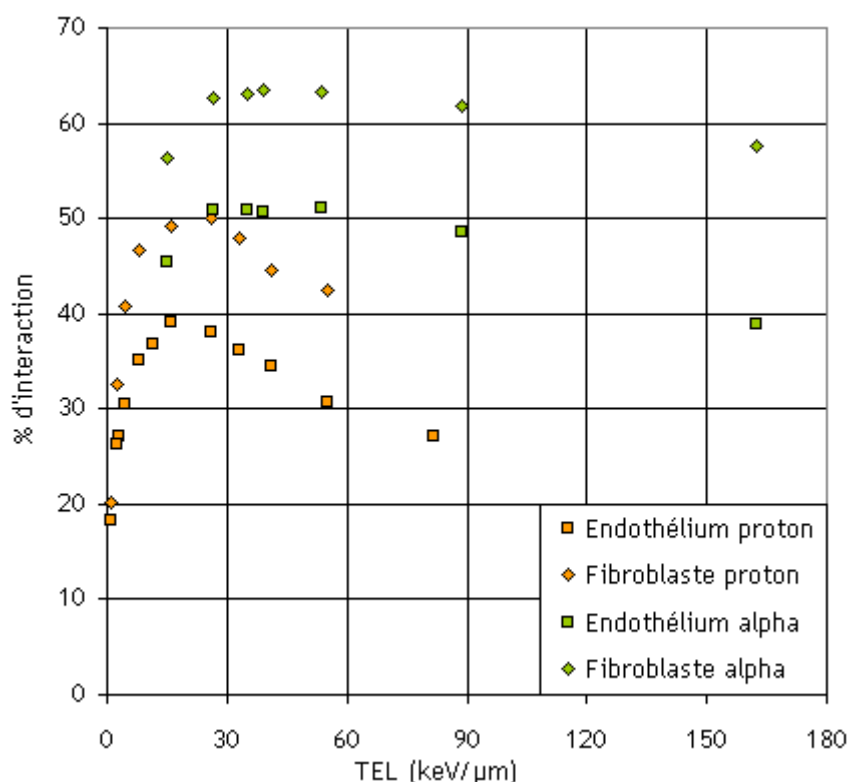


Figure IV-12 : Pourcentage d'interaction dans l'ADN au sein des deux noyaux cellulaires et pour les deux types d'irradiations en fonction du TEL.

Ces résultats montrent une augmentation du pourcentage d'interaction dans le squelette de l'ADN avec l'augmentation du TEL jusqu'à atteindre un maximum à ~ 30 keV/ μm pour les protons (proton de 1 MeV) et à 60 keV/ μm pour les alphas, puis diminue lorsque le TEL continue d'augmenter. En effet, à haut TEL si la trace primaire ne rencontre pas l'ADN, il y a peu de chances que les électrons secondaires le rencontrent également étant donné qu'ils déposent leur énergie à proximité de la trace. Ensuite, avec la diminution du TEL, les électrons vont s'éloigner de la trace par conséquent la probabilité de toucher l'ADN augmente même si la trace primaire ne touche pas l'ADN et ceci se produit jusqu'à atteindre un maximum à 26 keV/ μm . Puis cette probabilité de toucher l'ADN diminue du fait de la faible densité de la trace.

Comme nous l'avons vu en introduction de cette section sur la figure IV-11, ce phénomène se produit également pour l'évolution des EBR avec le TEL. En effet, différents auteurs de la littérature ont montré une augmentation du EBR avec le TEL avec un maximum autour de 30 keV/ μm pour les protons et autour de 80 keV/ μm pour les alphas [BEL98, PAG02, JAK08, ELS10]. Ainsi, la forme de nos résultats sur la probabilité de toucher ou non notre ADN peut être corrélée à la forme des résultats obtenus sur les EBR.

En effet, cette étude permet de mettre en évidence que l'énergie absorbée par la molécule d'ADN n'est pas une fraction constante de la dose absorbée, macroscopique, utilisée pour le calcul des EBR. Pour les faibles LET, la dose absorbée sous estime plus l'énergie réelle absorbée par la cible

d'ADN atteignant ensuite, avec l'augmentation du TEL, un minimum de cette surestimation au alentour de 30 keV/ μ m, puis cette surestimation ré-augmente. Cette surestimation de la dose absorbée peut ainsi en partie expliquer le comportement des EBR avec le TEL pour des ions légers. Ainsi, les différences rencontrées au niveau des effets biologiques pour différents types de rayonnement sont liées à la structure de la trace des particules et de la densité d'ADN qui sont inhomogènes à l'échelle nanométrique mais également à la définition de l'EBR qui utilise des grandeurs microdosimétriques ou cette inhomogénéité n'est pas prise en compte.

L'utilisation de notre géométrie de noyau cellulaire, contenant des détails nanométriques grâce à l'implémentation de la molécule d'ADN, a permis de déterminer l'énergie déposée dans celui-ci qui est différente de la dose absorbée macroscopique utilisée dans la définition des EBR.

IV.4.2 Influence de la dimension du RMS choisi dans les paramètres de clusterisation

Après avoir étudié la probabilité d'intersection entre la trace des particules et notre cible, nous avons voulu évaluer l'influence du rayon initial des clusters (RMS) choisi dans l'algorithme sur le nombre de clusters par particule et par micromètre (DSB et SSB complexe) obtenu dans nos deux noyaux cellulaires. Pour cela, lors de la clustérisation nous avons traité les dépôts d'énergie sélectionnés à l'aide de notre géométrie avec trois rayons distincts : 3,2 nm (\sim 10 bp), 10 nm et 15 nm (nucléosome).

Les rayons de 10 et 15 nm ont également été choisis, car, d'une part, pour les TEL les plus élevés, ils permettent de prendre en compte toute la pénombre de la trace et, d'autre part, ce sont les dimensions des dommages conduisant à la mort cellulaire dans les études sur les EBR.

Ainsi, les tableaux IV-29 et IV-30 reportent l'évolution du nombre de clusters par particule et par micromètre obtenus au sein des deux noyaux cellulaires suite aux simulations proton et alpha.

Tableau IV-29 : Evolution du nombre de clusters total par proton et par μm en fonction du rayon du cluster obtenus dans l'endothélium et le fibroblaste.

TEL (keV/ μm)	Endothelium			Fibroblaste		
	RMS = 3,2 nm	RMS = 10 nm	RMS = 15 nm	RMS = 3,2 nm	RMS = 10 nm	RMS = 15 nm
55,0	4,590	3,692	3,249	1,568	1,028	0,845
41,9	4,146	3,418	3,139	1,405	1,068	0,906
35,2	3,431	3,111	2,871	1,225	1,042	0,910
26,9	2,625	2,545	2,464	0,929	0,880	0,809
16,9	1,558	1,653	1,655	0,497	0,527	0,521
8,3	0,657	0,720	0,734	0,215	0,232	0,353
4,8	0,337	0,365	0,370	0,110	0,116	0,176
2,7	0,167	0,176	0,177	0,051	0,052	0,031
1,3	0,061	0,061	0,059	0,017	0,017	0,016

Tableau IV-30 : Evolution du nombre de clusters total par alpha et par μm en fonction du rayon du cluster obtenus dans l'endothélium et le fibroblaste.

TEL (keV/ μm)	Endothelium			Fibroblaste		
	RMS = 3,2 nm	RMS = 10 nm	RMS = 15 nm	RMS = 3,2 nm	RMS = 10 nm	RMS = 15 nm
162,5	7,821	7,821	5,203	3,087	1,815	1,430
88,6	5,464	5,464	5,062	1,556	1,447	1,303
53,4	3,419	3,419	3,589	0,952	0,991	0,856
39,3	2,436	2,436	2,635	0,729	0,781	0,770
34,9	2,153	2,153	2,337	0,643	0,695	0,691
26,4	1,527	1,527	1,674	0,488	0,526	0,527
15,2	0,767	0,767	0,827	0,244	0,262	0,263

De manière à mieux visualiser l'évolution du nombre de clusters par particule et par micromètre pour les trois dimensions de RMS choisies, ces résultats sont représentés graphiquement sur les figures IV-13, pour les simulations protons, et figure IV-14, pour les simulations alpha.

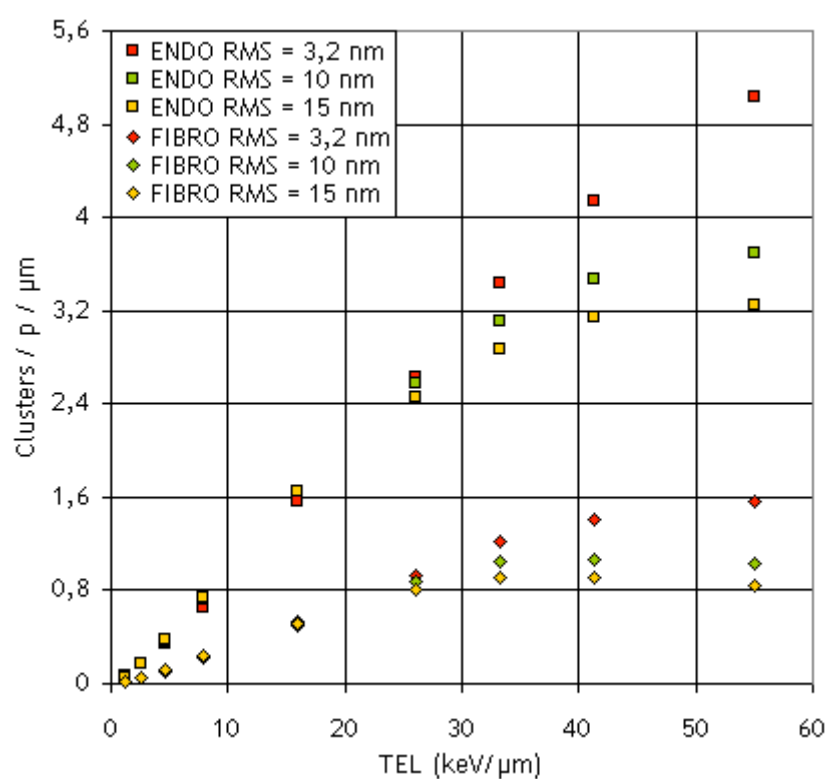


Figure IV-13 : Evolution du nombre de clusters par proton et par micromètre en fonction du TEL pour les trois rayons choisis pour la clusterisation.

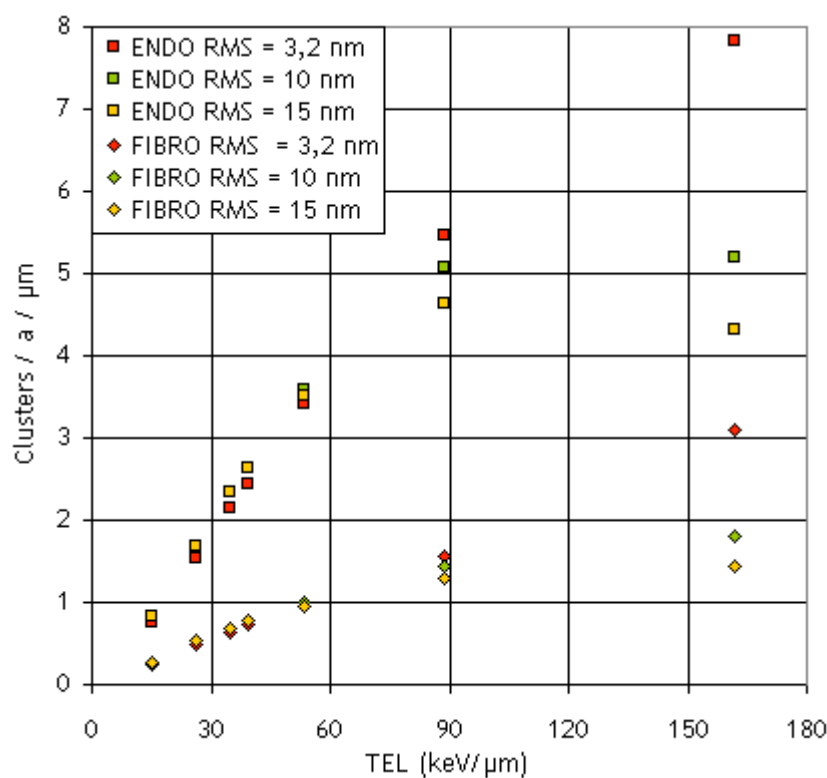


Figure IV-14 : Evolution du nombre de clusters par alpha et par micromètre en fonction du TEL pour les trois rayons choisis pour la clusterisation.

Ces résultats montrent que l'augmentation du rayon du cluster choisi pour réaliser la clustérisation conduit à l'apparition d'un plateau de saturation au niveau du nombre de dommages par particule et par micromètre.

En effet, pour les TEL inférieurs à 26 keV/ μm pour les protons et 90 keV/ μm pour les alphas, nous n'observons pas de différence significative au niveau du nombre de clusters par particule et par micromètre en fonction du rayon choisi pour réaliser la clustérisation. Ceci peut s'expliquer par le fait que, pour ces TEL, les traces sont peu denses et les dépôts d'énergie assez espacés, par conséquent la probabilité d'avoir des dépôts d'énergie assez proches pour former des clusters complexes est plus faible (cf. section IV.2). Le rayon choisi pour la clustérisation a par conséquent moins d'importance pour la détection des clusters.

Pour les TEL plus élevés, les traces sont plus denses, par conséquent avec l'augmentation du RMS, nous avons l'apparition d'un plateau de saturation pouvant être lié d'une part à la fusion de clusters et d'autre part à la prise en compte de toute la pénombre de la trace pour la formation des clusters.

En effet, le phénomène de fusion des clusters que l'on voyait déjà apparaître pour les RMS de 3,2 nm se renforce pour les RMS plus élevés montrant un plateau de saturation sur le nombre de clusters à partir de 90 keV/ μm . La possibilité de fusion des clusters sera d'autant plus grande que le TEL sera grand et que le rayon choisi pour la clustérisation sera grand.

D'autre part, lorsque l'on analyse les traces des particules (proton ou alpha) primaires ainsi que le spectre des électrons secondaires créés nous pouvons observer que, avec l'augmentation du TEL, les électrons secondaires produits sont plus nombreux mais ils sont également plus proches de la trace primaire. Par conséquent un rayon de 15 nm peut englober toute la trace (pénombre) alors que pour des TEL plus faibles (proton inférieur à 20 keV/ μm et alpha inférieur à 60 keV/ μm), les électrons secondaires créés sont moins nombreux mais déposent leur énergie plus loin de la trace primaire. Ainsi les rayons de 10 et 15 nm correspondent à des dimensions suffisantes pour englober tous les dépôts d'énergie de la trace pour les haut TEL, c'est donc pour ces raisons que nous avons l'apparition d'un palier de saturation lorsque le TEL augmente. De plus, nous pouvons observer que ce palier de saturation apparaît plus tard pour les alphas, c'est-à-dire pour des TEL plus élevés, ceci étant lié à la nature de la trace et aux différences de topologie entre les traces des protons et des alphas (cf. chapitre I, figure I-3).

Enfin, nous pouvons constater que, les valeurs des TEL à partir desquelles commencent à apparaître le palier de saturation (~ 26 keV/ μm pour les protons et ~ 90 keV/ μm pour les alphas) sont en accord avec celles des valeurs maximales des EBR (études de Jakel et al. [JAK08], figure IV-8). Ceci est en accord avec ce qui a été dit précédemment concernant la prise en compte de toute la pénombre de la trace avec des rayons supérieurs à 10 nm pour les TEL les plus élevés.

IV.4.3 Conclusion sur la section

Cette section a été dédiée à l'étude de la relation EBR par rapport au TEL avec une approche nanométrique. En effet, dans la littérature de nombreuses études ont été dédiées aux conséquences des rayonnements ionisants sur le devenir de la cellule en étudiant des effets biologiques à l'échelle macroscopique (mort cellulaire par exemple) en évaluant les EBR. Au vu du comportement de ces EBR avec le TEL nous avons voulu étudier quels sont les paramètres, dans la description nanométrique de l'interaction entre la trace des particules et la cible d'ADN qui sont appropriés pour l'étude des effets biologiques.

Ainsi, dans un premier temps, nous avons quantifié la probabilité d'interaction dans notre cible d'ADN lors des simulations étant donné que celui-ci, bien que réparti de manière homogène dans le noyau cellulaire, ne représente que quelques pourcents du volume total. *Nous avons observé que l'évolution de la probabilité d'interaction dans l'ADN avec le TEL à la même forme que celle de l'évolution des EBR avec le TEL. En effet, la probabilité de toucher l'ADN augmente jusqu'à atteindre un maximum puis diminue lorsque le TEL continue d'augmenter. Les valeurs maximales sont obtenues pour les protons de 1 MeV et les alphas de 10 MeV apparaissant ainsi comme étant ceux qui contribuent le plus aux dommages induits dans la cible du fait des dimensions de celle-ci et de sa distribution au sein des noyaux cellulaires. Ces résultats ont permis de montrer que l'énergie absorbée par l'ADN n'est pas une fraction constante de la dose absorbée (macroscopique) utilisée pour les EBR et que celle-ci est surestimée.*

Dans un second temps, une étude sur l'influence du paramètre RMS a été réalisée. *Cette étude a permis de montrer que le RMS déterminé dans les paramètres de clusterisation a une influence sur la formation des clusters pour les TEL les plus élevés c'est-à-dire pour les traces les plus denses et compactes. En effet, le nombre de clusters par proton et par micromètre sature avec l'augmentation du TEL pour les RMS supérieurs à 10 nm, ceci étant lié à la prise en compte de toute la pénombre de la trace pour les plus hauts TEL. L'allure de ces résultats est également la même que celle des EBR avec l'augmentation du TEL, les dommages ayant des dimensions supérieures à 10 nm apparaissent ainsi comme des dommages ayant une bonne dimension pour conduire aux dommages tardifs de la cellule.*

IV.5 Influence de la forme de l' endothélium

Cette section est dédiée à l'évaluation de l'influence de la forme du noyau cellulaire sur le nombre et la complexité des dommages induits au sein de notre molécule d'ADN. En effet, comme nous l'avons vu dans le chapitre II, dans les travaux de Friedland et al. [FRI11] utilisant le code de simulation PARTRAC, le noyau utilisé est de type fibroblaste ayant une épaisseur constante et non de forme ellipsoïdale qui est utilisé pour les simulations. Ainsi, nous avons voulu évaluer l'influence de cette différence et pour cela un nouveau noyau cellulaire de type endothélium a été implémenté. Ce nouveau noyau a les mêmes dimensions en longueur et en largeur que notre modèle initial d'endothélium (18 μm de longueur et 12 μm de hauteur) mais présente une épaisseur constante de 2 μm (figure IV-15).

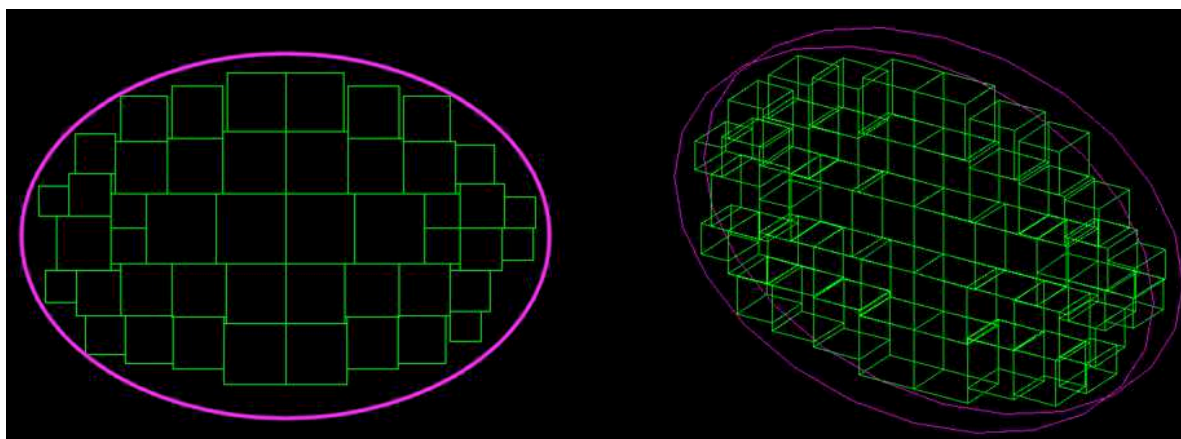


Figure IV-15 : Nouveau noyau de type endothélium ayant une épaisseur constante (2 μm) et rempli avec des territoires chromosomiques de forme rectangle.

Ce nouveau noyau a un volume légèrement plus important que notre noyau d'endothélium initial, 339,1 μm^3 contre 219 μm^3 , par conséquent les territoires chromosomiques seront également légèrement plus volumineux que les précédents et présentent ainsi une densité légèrement plus faible. Comme ce nouveau noyau a une épaisseur constante, la forme des territoires chromosomiques, qui étaient cubiques dans le modèle initial de l'endothélium, a été modifiée. Ces nouveaux territoires sont de forme parallélépipédique ayant deux cotés de même longueur (x et y) et une profondeur fixe de 2 μm . Le volume et les dimensions de ces nouveaux territoires chromosomiques sont reportés dans le tableau IV-31. Ces territoires chromosomiques sont remplis, comme précédemment, avec des boucles de chromatine.

Tableau IV-31 : Volumes et dimensions des territoires chromosomiques implémentés dans le nouveau noyau d'endothélium de forme cylindrique.

Chromosomes	Nombre de boucles	$V_{\text{chromo}} (\mu\text{m}^3)$	$x = y (\mu\text{m})$	$z (\mu\text{m})$
1	3430	14,02	2,65	2
2	3402	13,91	2,64	2
3	2793	11,40	2,39	2
4	2681	10,95	2,34	2
5	2527	10,34	2,27	2
6	2387	9,76	2,21	2
7	2219	9,06	2,13	2
8	2044	8,34	2,04	2
9	1883	7,69	1,96	2
10	1897	7,69	1,96	2
11	1890	7,72	1,96	2
12	1869	7,63	1,95	2
13	1596	6,53	1,81	2
14	1477	6,02	1,74	2
15	1400	5,72	1,69	2
16	1260	5,14	1,60	2
17	1148	4,67	1,53	2
18	1092	4,45	1,49	2
19	896	3,65	1,35	2
20	896	3,64	1,35	2
21	658	2,69	1,16	2
22	693	2,83	1,19	2
X	2135	8,73	2,09	2
Y	714	2,91	1,21	2

IV.5.1 Quantification des dommages

Les tableaux IV-32 et IV-33 reportent l'évolution du nombre de dommages de type DSB et SSB par proton et par micromètre obtenu au sein des deux noyaux d'endothélium en fonction du TEL des protons primaires. La dernière colonne de ces tableaux reporte la différence (en %) entre ces noyaux pour le type de dommage considéré.

Tableau IV-32 : DSB/p/μm en fonction du TEL dans les deux noyaux d'endothélium.

E (MeV)	TEL (keV/μm)	Endothélium e = 2 μm	Endothélium ellipsoïde	Différence (%)
0,5	41,9	2,078	2,015	3,03
0,7	35,2	1,698	1,620	4,60
1	26,9	1,241	1,165	6,12
2	16,9	0,634	0,620	2,21
5	8,3	0,248	0,242	2,42
10	4,8	0,119	0,118	0,84
20	2,7	0,055	0,056	1,79
50	1,3	0,019	0,021	9,50

Tableau IV-33 : SSB/p/μm en fonction du TEL dans les deux noyaux d'endothélium.

E (MeV)	TEL (keV/μm)	Endothélium e = 2 μm	Endothélium ellipsoïde	Différence (%)
0,5	41,9	6,437	6,310	1,97
0,7	35,2	6,108	5,853	4,17
1	26,9	5,437	5,108	6,05
2	16,9	3,819	3,747	1,89
5	8,3	2,100	1,981	5,67
10	4,8	1,214	1,161	4,37
20	2,7	0,700	0,672	4,00
50	1,3	0,336	0,311	7,44

Nous pouvons observer que, quel que soit le type de dommages, les résultats évoluent de la même manière dans les deux noyaux cellulaires. Comme nous l'avons vu dans les sections précédentes, la quantité de dommages augmente avec le TEL.

Concernant la comparaison des noyaux, nous pouvons observer que, pour les deux types de dommages, la différence entre les noyaux est faible, pas plus de 10 % pour les candidats aux DSB et 8 % pour les candidats aux SSB. Notons également que cette différence maximale se produit pour les

protons de 50 MeV c'est-à-dire lorsque la densité de la trace est la plus faible. Excepté ces valeurs, la différence entre les noyaux varie entre 1 et 6 % dans les deux cas. Ainsi, la forme de l'endothélium, ellipsoïdale ou cylindrique, n'influence pas de manière significative la quantité de dommages induite par les protons.

IV.5.2 Complexité des dommages

IV.5.2.1 Complexité des DSB

Concernant la complexité des dommages, la figure IV-16 et tableau IV-34 reportent les résultats de la complexité des dommages de type DSB en fonction de la taille du cluster pour les deux types de noyaux d'endothélium. La quantité de clusters pour une taille donnée étant très faible pour les protons de 20 et 50 MeV, ces énergies n'ont pas été reportées sur la représentation graphique.

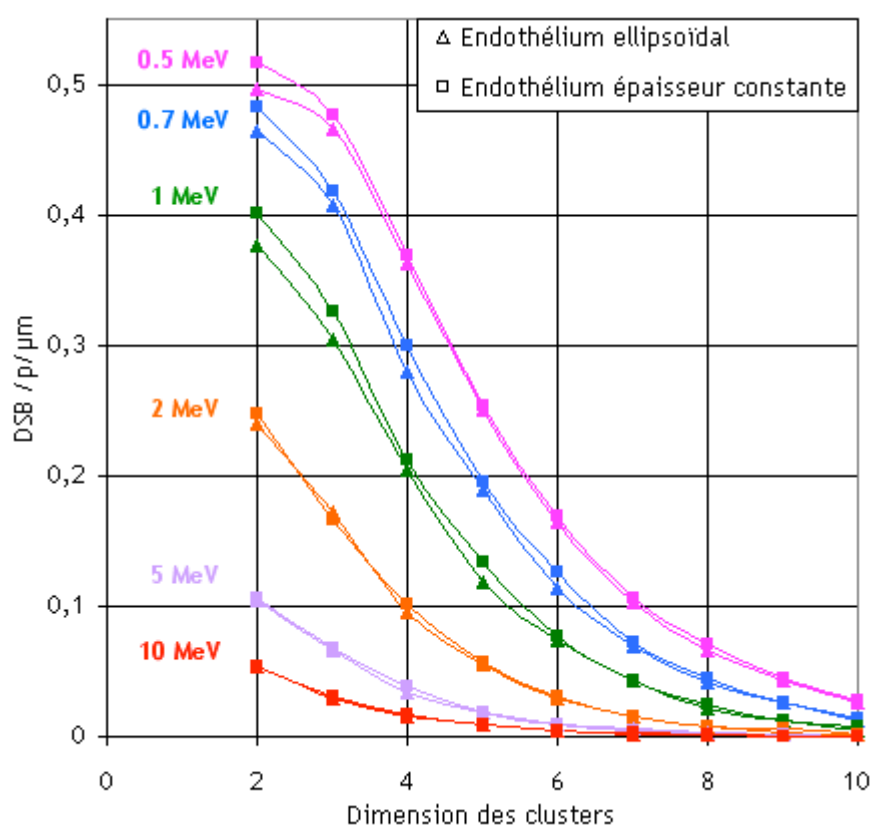


Figure IV-16 : Comparaison du nombre de DSB/p/μm en fonction de la taille des clusters entre les deux noyaux de type endothélium. Les symboles triangulaires sont utilisés pour le noyau de forme ellipsoïdale tandis que les symboles carrés sont utilisés pour le noyau cylindrique de 2 μm d'épaisseur.

Tableau IV-34 : DSB/p/μm pour les différentes tailles de clusters en fonction du TEL des protons.

TEL (keV/μm)	Taille du cluster									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10
41,9	Endo e = 2 μm	0,515	0,477	0,369	0,253	0,169	0,106	0,071	0,045	0,027
	Endo ellipse	0,496	0,465	0,363	0,250	0,164	0,103	0,067	0,043	0,026
35,2	Endo e = 2 μm	0,483	0,418	0,300	0,195	0,125	0,072	0,044	0,027	0,014
	Endo ellipse	0,464	0,407	0,279	0,189	0,114	0,069	0,042	0,026	0,013
26,9	Endo e = 2 μm	0,400	0,325	0,211	0,134	0,077	0,043	0,026	0,013	0,007
	Endo ellipse	0,377	0,305	0,204	0,119	0,074	0,042	0,021	0,012	0,005
16,9	Endo e = 2 μm	0,248	0,167	0,101	0,057	0,031	0,015	0,007	0,006	0,002
	Endo ellipse	0,239	0,172	0,095	0,056	0,028	0,015	0,007	0,004	0,002
8,3	Endo e = 2 μm	0,106	0,067	0,038	0,018	0,009	0,005	0,002	0,001	$7 \cdot 10^{-4}$
	Endo ellipse	0,105	0,066	0,034	0,018	0,009	0,006	0,002	0,001	$5 \cdot 10^{-4}$
4,8	Endo e = 2 μm	0,054	0,031	0,017	0,008	0,004	0,002	0,001	$6 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$
	Endo ellipse	0,053	0,030	0,016	0,010	0,004	0,002	0,001	$5 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$
2,7	Endo e = 2 μm	0,025	0,014	0,008	0,004	0,002	0,001	$5 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
	Endo ellipse	0,026	0,015	0,008	0,004	0,002	0,001	$5 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
1,3	Endo e = 2 μm	0,009	0,005	0,003	0,001	$8 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	$7 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-5}$
	Endo ellipse	0,010	0,006	0,003	0,002	0,001	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$7 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$

D'après ces résultats, nous pouvons observer qu'il n'y a pas de réelle différence au niveau du nombre de dommages en fonction de la complexité des DSB entre les deux types d'endothélium. La même conclusion est également observée au niveau de la proportion de ces dommages pour une taille donnée. Ainsi, la forme de l'endothélium n'influence pas la complexité des candidats aux dommages DSB induits par les protons.

IV.5.2.2 Complexité des SSB

De la même manière que pour les résultats de la complexité des DSB, une comparaison de la complexité des dommages de type SSB a également été effectuée entre les deux noyaux de types endothélium. Ainsi, la figure IV-17 et le tableau IV-35 reportent ces résultats. Comme

précédemment, les deux énergies les plus élevées, 20 et 50 MeV, n'ont pas été reportées sur la figure pour plus de lisibilité.

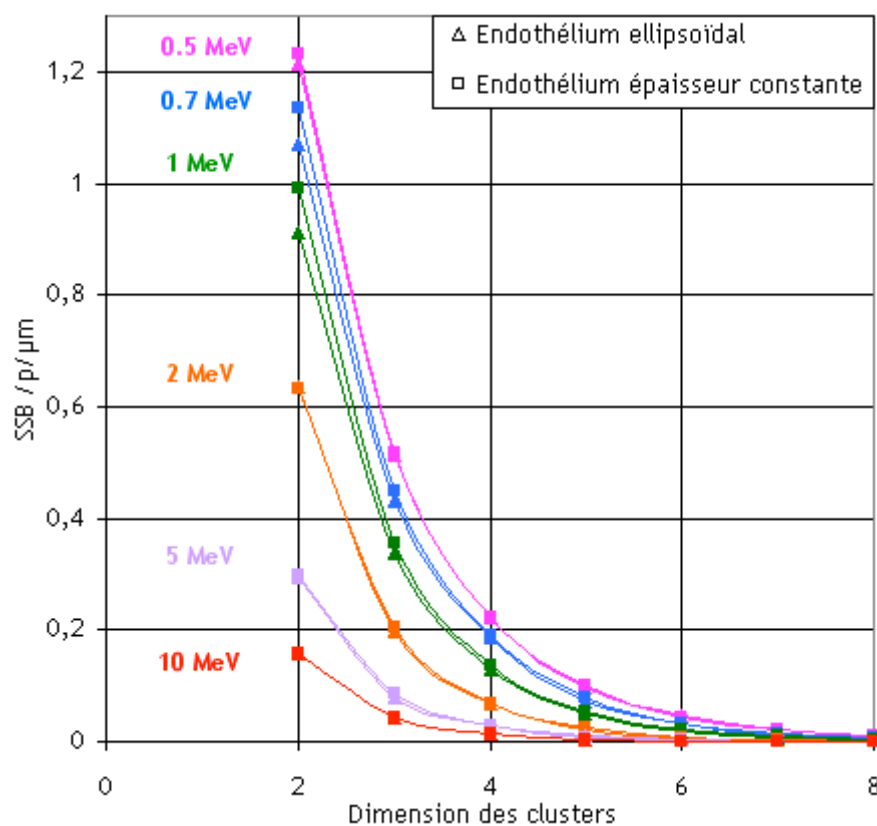


Figure IV-17 : Comparaison du nombre de SSB/ μm en fonction de la taille des clusters entre les deux noyaux de type endothélium. Les symboles triangulaires sont utilisés pour le noyau de forme ellipsoïdale tandis que les symboles carrés sont utilisés pour le noyau cylindrique de 2 μm d'épaisseur.

Tableau IV-35 : SSB/p/μm pour les différentes tailles de clusters en fonction du TEL des protons.

TEL (keV/μm)	Taille du cluster							
		2	3	4	5	6	7	8
41,9	Endo e = 2 μm	1,233	0,517	0,224	0,099	0,043	0,020	0,009
	Endo ellipse	1,215	0,513	0,224	0,095	0,046	0,021	0,010
35,2	Endo e = 2 μm	1,136	0,450	0,192	0,077	0,032	0,014	0,007
	Endo ellipse	1,067	0,430	0,185	0,073	0,032	0,012	0,006
26,9	Endo e = 2 μm	0,990	0,355	0,135	0,052	0,023	0,010	0,003
	Endo ellipse	0,914	0,336	0,129	0,049	0,019	0,008	0,003
16,9	Endo e = 2 μm	0,634	0,204	0,069	0,026	0,009	0,004	0,001
	Endo ellipse	0,636	0,199	0,068	0,022	0,009	0,003	0,001
8,3	Endo e = 2 μm	0,298	0,085	0,028	0,009	0,003	0,001	3.10 ⁻⁴
	Endo ellipse	0,293	0,081	0,027	0,009	0,003	0,001	5.10 ⁻⁴
4,8	Endo e = 2 μm	0,158	0,043	0,014	0,004	0,002	5.10 ⁻⁴	1.10 ⁻⁴
	Endo ellipse	0,158	0,041	0,013	0,005	0,002	5.10 ⁻⁴	2.10 ⁻⁴
2,7	Endo e = 2 μm	0,079	0,020	0,006	0,002	9.10 ⁻⁴	3.10 ⁻⁴	1.10 ⁻⁴
	Endo ellipse	0,081	0,020	0,007	0,002	0,001	2.10 ⁻⁴	2.10 ⁻⁵
1,3	Endo e = 2 μm	0,027	0,007	0,002	7.10 ⁻⁴	4.10 ⁻⁴	7.10 ⁻⁵	4.10 ⁻⁵
	Endo ellipse	0,029	0,007	0,002	0,001	3.10 ⁻⁴	6.10 ⁻⁵	3.10 ⁻⁵

Ces résultats montrent que, comme pour les dommages de type DSB, il n'y a pas de réelle différence au niveau de la complexité des clusters de type SSB. Les dimensions des clusters en fonction du TEL évoluent de la même manière ainsi que la quantité de dommages pour une taille de cluster donnée.

IV.5.3 Conclusion sur la section

Cette section a été dédiée à l'évaluation de l'influence de la morphologie du noyau cellulaire sur le nombre et la complexité des dommages DSB et SSB. Pour cela, un nouveau noyau de type

endothélium, ayant une épaisseur constante, a été implémenté de manière à être utilisé comme cible dans les modélisations.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons en déduire que ce n'est pas tant la forme du noyau cellulaire qui influence les résultats sur le nombre et la complexité des dommages mais plutôt le volume de celui-ci. En effet, dans les sections précédentes nous avons montré que des différences significatives étaient rencontrées entre les noyaux cellulaires du fibroblaste et de l'endothélium et pourtant ces deux noyaux ont bien la même forme mais il y a un facteur 3,3 entre les volumes de ceux-ci. Ainsi c'est bien le volume du noyau cellulaire qui a le plus d'impact sur les résultats des simulations ceci suggérant que le type cellulaire pourra avoir une influence sur le nombre et la complexité des dommages radio-induits.

IV.6 Influence de la condensation de la chromatine

Comme nous l'avons vu en introduction de ce manuscrit, quelques études expérimentales ont été dédiées à l'investigation des dommages à l'ADN dans des régions de densité de chromatine différentes. Dans ces travaux, il a été montré que la condensation de la chromatine peut avoir une influence sur la signalisation et la réparation des DSB [GOO12] ainsi que sur le mouvement des DSB [FAL10] et la relocalisation de ces dommages en périphérie de la région de l'hétérochromatine conduisant à une décondensation locale de celle-ci [JAK11]. Néanmoins, bien que l'influence de la condensation de la chromatine ait été étudiée expérimentalement, aucune étude n'a encore été réalisée par calcul Monte-Carlo. Ainsi, de manière à évaluer l'influence de la condensation de la chromatine par calcul Monte-Carlo, deux « versions » d'un territoire chromosomique de chaque noyau cellulaire ont été implémentées dans Geant4. Ainsi, l'un des territoires chromosomiques est rempli avec des morceaux de fibre de chromatine tandis que l'autre est rempli avec des nucléosomes placés de manière aléatoire dans le volume. Ces deux versions du territoire chromosomique nous permettent d'évaluer l'influence de la décondensation de la chromatine.

Comme dans le cas des noyaux cellulaires, nous avons réalisé des simulations avec des protons et des alphas et nous avons évalué l'influence de la forme de la chromatine sur le nombre et la complexité des dommages. Comme des conclusions similaires sur l'influence de la décondensation de la chromatine ont été observées pour les deux types d'irradiations, dans cette section, uniquement les résultats concernant les simulations protons ont été reportés. Les résultats concernant les particules alphas se trouvent dans l'annexe B.

Pour plus de clarté dans les tableaux, légendes et graphiques, les territoires chromosomiques contenant les fibres de chromatine seront notés TC_HETERO (ENDO TC_HETERO ou FIBRO TC_HETERO) et les territoires chromosomiques contenant les nucléosomes placés de manière aléatoire dans le volume seront notés TC_EU (ENDO TC_EU ou FIBRO TC_EU).

Pour les représentations graphiques, les symboles de forme carrée sont utilisés pour représenter les résultats dans les territoires chromosomiques de type ENDO et les symboles de forme losange sont utilisées pour les résultats dans les territoires chromosomiques de type FIBRO. La couleur rose est utilisée pour représenter les résultats obtenus dans notre hétérochromatine c'est-à-dire dans les territoires chromosomiques composés de fibres (TC_HETERO) et la couleur verte pour notre euchromatine c'est-à-dire lorsque les nucléosomes sont placés de manière homogène dans tout le volume (TC_EU).

IV.6.1 Quantification des dommages

IV.6.1.1 Candidats aux dommages de type DSB

Les tableaux IV-36 et IV-37 reportent l'évolution de la quantification du nombre de dommages par proton et par micromètre obtenus au sein des différents territoires chromosomiques. Le tableau IV-36 concerne les résultats obtenus dans les deux géométries des territoires chromosomiques de type fibroblaste et le tableau IV-37 pour les territoires chromosomiques de type endothélium. La dernière colonne de chaque tableau reporte la différence (en %) entre les deux « versions » du territoire chromosomique pour un type cellulaire donné. Ainsi nous pourrions évaluer l'influence de la décondensation de la chromatine en fonction du TEL des protons simulés. Une représentation graphique de ces résultats est également montrée sur la figure IV-18.

Tableau IV-36 : DSB/p/μm dans les deux territoires chromosomiques du fibroblaste.

TEL (keV/μm)	DSB/p/μm		Différence (%)
	FIBRO TC_EU	FIBRO TC_HETERO	
41,9	$1,095 \pm 7.10^{-3}$	$1,289 \pm 0,019$	15,1
35,2	$0,921 \pm 6.10^{-3}$	$1,097 \pm 0,012$	16,0
26,9	$0,639 \pm 3.10^{-3}$	$0,774 \pm 6.10^{-3}$	17,4
16,9	$0,321 \pm 1.10^{-3}$	$0,391 \pm 3.10^{-3}$	17,9
8,3	$0,121 \pm 3.10^{-4}$	$0,148 \pm 4.10^{-4}$	18,2
4,8	$0,054 \pm 8.10^{-5}$	$0,072 \pm 1.10^{-4}$	25,0
2,7	$0,022 \pm 2.10^{-5}$	$0,029 \pm 2.10^{-5}$	24,1
1,3	$0,005 \pm 2.10^{-6}$	$0,009 \pm 4.10^{-6}$	44,4

Tableau IV-37 : DSB/p/μm dans les deux territoires chromosomiques de l'endothélium.

TEL (keV/μm)	DSB/p/μm		Différence (%)
	ENDO TC_EU	ENDO TC_HETERO	
41,9	3,457 ± 0,095	3,970 ± 0,244	12,9
35,2	2,856 ± 0,066	3,394 ± 0,125	15,9
26,9	2,021 ± 0,035	2,384 ± 0,062	15,2
16,9	1,035 ± 0,010	1,216 ± 0,017	14,9
8,3	0,407 ± 0,002	0,470 ± 0,003	13,4
4,8	0,195 ± 7,10 ⁻⁴	0,227 ± 0,001	14,1
2,7	0,087 ± 2,10 ⁻⁴	0,105 ± 3.10 ⁻⁴	17,1
1,3	0,028 ± 3,10 ⁻⁵	0,036 ± 4.10 ⁻⁵	22,2

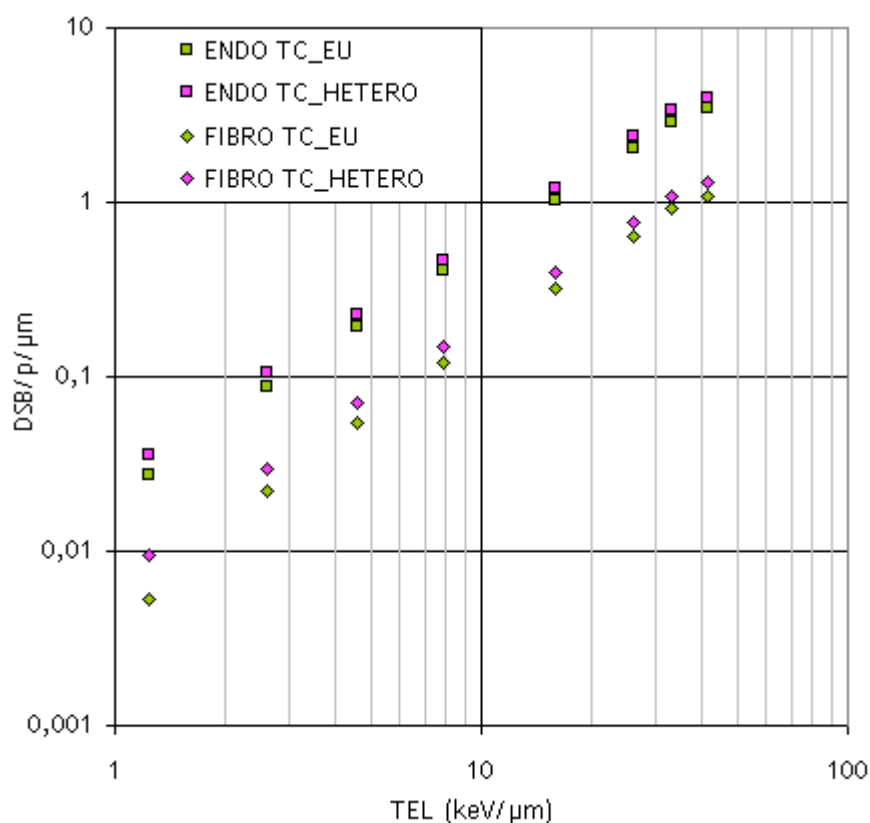


Figure IV-18 : Evolution des DSB/p/μm en fonction du TEL des protons pour les quatre types de territoires chromosomiques.

Ces résultats montrent que, quel que soit le type de noyau (endothélium ou fibroblaste) et le TEL de la particule primaire, il y a toujours un nombre plus élevé de dommages qui sont trouvés au sein des territoires chromosomiques composés de morceaux de fibre de chromatine, c'est-à-dire là où la chromatine est la plus condensée. Ceci est lié au fait que, lorsque la particule traverse un bâtonnet de chromatine elle va trouver de nombreux nucléosomes à proximité de son passage. Par conséquent, la probabilité que le passage de cette particule induise des dépôts d'énergie dans plusieurs nucléosomes est plus importante dans les fibres de chromatine que lorsque les nucléosomes sont placés de manière aléatoire dans tout le volume. Ainsi, si plusieurs nucléosomes sont impactés par des dépôts d'énergie il y a une plus grande probabilité d'avoir un plus grand nombre de DSB dans les régions les plus condensées.

De plus nous pouvons remarquer que, la différence au niveau du nombre de DSB entre les deux formes de la chromatine tend à augmenter avec la diminution du TEL, ceci étant lié à la densité de la trace qui diminue. Cette différence est d'autant plus importante dans le territoire chromosomique du fibroblaste étant donné que celui-ci est plus volumineux. Par conséquent les nucléosomes disposés de manière aléatoire sont plus éloignés les uns des autres.

IV.6.1.2 Candidats aux dommages de type SSB

De la même manière que pour les dommages de type DSB, la quantification des dommages de type SSB a été réalisée au sein des différents territoires chromosomiques. Le tableau IV-38 concerne les deux territoires chromosomiques du fibroblaste et le tableau IV-39 ceux de l'endothélium.

Tableau IV-38 : SSB/p/μm dans les deux territoires chromosomiques du fibroblaste.

TEL (keV/μm)	SSB/p/μm		Différence (%)
	FIBRO TC_EU	FIBRO TC_HETERO	
41,9	4,055 ± 0,077	3,970 ± 0,163	-2,14
35,2	3,835 ± 0,069	3,868 ± 0,130	0,85
26,9	3,266 ± 0,054	3,325 ± 0,099	1,77
16,9	2,267 ± 0,037	2,380 ± 0,067	4,75
8,3	1,236 ± 0,012	1,303 ± 0,016	5,14
4,8	0,746 ± 0,005	0,775 ± 0,007	3,74
2,7	0,445 ± 0,002	0,443 ± 0,002	-0,45
1,3	0,210 ± 7,10 ⁻⁴	0,213 ± 6.10 ⁻⁴	1,41

Tableau IV-39 : SSB/p/μm dans les deux territoires chromosomiques de l'endothélium.

TEL (keV/μm)	SSB/p/μm		%
	ENDO TC_EU	ENDO TC_HETERO	différence
41,9	12,84 ± 0,853	12,28 ± 2,063	-4,56
35,2	12,16 ± 0,831	12,03 ± 1,356	-1,08
26,9	10,30 ± 0,632	10,33 ± 0,929	0,29
16,9	7,181 ± 0,333	7,309 ± 0,484	1,75
8,3	3,817 ± 0,111	3,935 ± 0,150	3,00
4,8	2,207 ± 0,026	2,228 ± 0,054	0,94
2,7	1,244 ± 0,017	1,227 ± 0,019	-1,38
1,3	0,596 ± 0,004	0,576 ± 0,004	-3,47

Contrairement aux résultats des DSB, le nombre total de SSB/p/μm est sensiblement le même entre les territoires chromosomiques remplis avec des bâtonnets de chromatine ou des nucléosomes placés aléatoirement dans le volume. En effet, comme nous pouvons le constater dans les dernières colonnes de ces tableaux, la différence entre les géométries ne varie pas plus de 5 % dans le cas des territoires chromosomiques du fibroblaste et pas plus de 3 % pour ceux de l'endothélium.

Ainsi nous avons voulu évaluer si la constance entre les différentes formes de la chromatine venait des deux types de dommages (SSB isolées ou SSB complexes) ou si au contraire nous pouvions observer des variations. Pour cette raison, les tableaux IV-40 et IV-41 ainsi que les figure IV-19 et IV-20 reportent l'évolution du nombre de SSB isolées et le nombre de SSB complexes pour chaque géométrie en fonction du TEL des protons initiaux.

Tableau IV-40 : Décomposition de la quantité de dommages SSB dans les territoires chromosomiques du fibroblaste.

TEL (keV/ μm)	SSB _{is} /p/ μm			SSB _{cplx} /p/ μm		
	FIBRO	FIBRO	Différence	FIBRO	FIBRO	Différence
	TC_EU	TC_HETERO	(%)	TC_EU	TC_HETERO	(%)
41,9	2,68	2,62	-2,29	1,38	1,35	-2,22
35,2	2,63	2,66	1,13	1,21	1,21	0
26,9	2,31	2,37	2,53	0,95	0,95	0
16,9	1,70	1,80	5,55	0,57	0,58	1,72
8,3	1,00	1,05	4,76	0,24	0,26	7,70
4,8	0,64	0,65	1,54	0,11	0,13	15,4
2,7	0,40	0,39	-2,56	0,04	0,05	20,0
1,3	0,20	0,20	0	0,01	0,02	50,0

Tableau IV-41 : Décomposition de la quantité de dommages SSB dans les territoires chromosomiques de l'endothélium.

TEL (keV/ μm)	SSB _{is} /p/ μm			SSB _{cplx} /p/ μm		
	ENDO	ENDO	Différence	ENDO	ENDO	Différence
	TC_EU	TC_HETERO	(%)	TC_EU	TC_HETERO	(%)
41,9	8,49	8,16	-4,04	4,35	4,11	-5,84
35,2	8,34	8,24	-1,21	3,82	3,78	-1,06
26,9	7,31	7,32	0,14	2,99	3,00	0,33
16,9	5,38	5,49	2,00	1,80	1,82	1,10
8,3	3,02	3,10	2,58	0,80	0,83	3,61
4,8	1,81	1,81	0	0,39	0,41	4,88
2,7	1,05	1,02	-2,94	0,19	0,20	5,00
1,3	0,53	0,50	-6,00	0,06	0,07	14,3

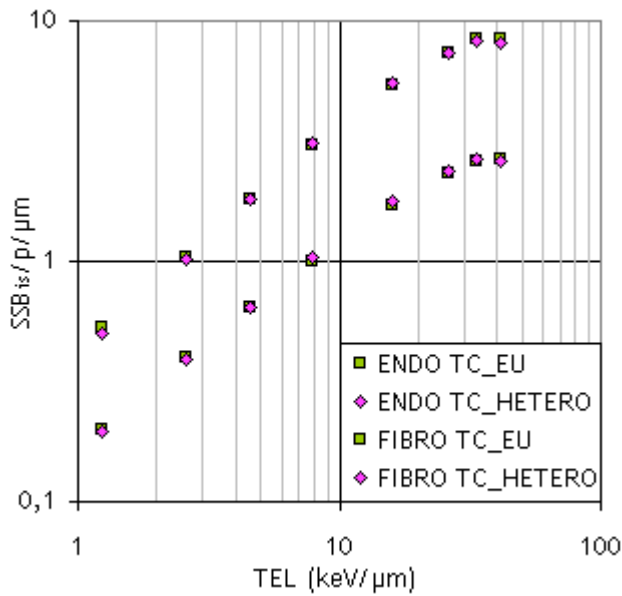


Figure IV-19 : Nombre de SSB isolées par proton et par micromètre en fonction du TEL.

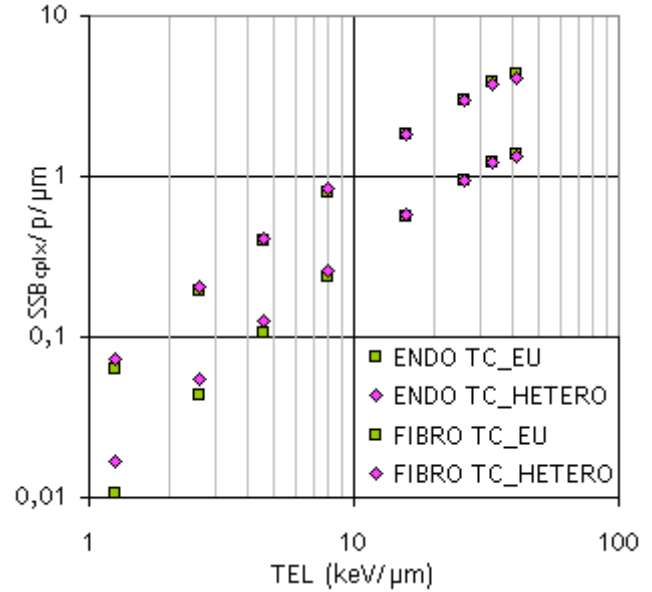


Figure IV-20 : Nombre de SSB complexes par proton et par micromètre en fonction du TEL.

Concernant la quantification des SSB isolées, de faibles différences ont été rencontrées entre les différentes formes de chromatine et aucune tendance particulière n'a pu être mise en évidence. Une différence d'environ 2,6 % est observée entre les territoires chromosomiques du fibroblaste et celle-ci est de 2,3 % entre les territoires chromosomiques de l'endothélium.

Concernant la quantification des SSB complexes, une augmentation de la différence entre les deux formes de chromatine a été observée avec la diminution du TEL. Cette tendance est d'autant plus visible dans les territoires chromosomiques du fibroblaste où les nucléosomes placés de manière aléatoire sont plus espacés du fait du volume plus grand. Ainsi, la condensation de la chromatine a bien une influence sur la quantité de cassures simple brin complexes. Comme pour les candidats aux DSB on a une plus forte probabilité d'avoir des clusters SSB dans le cas des géométries composées de fibre de chromatine du fait de la proximité des nucléosomes dans cette forme de compaction de la chromatine.

La différence entre le nombre de SSB total par proton et par micromètre pour une géométrie donnée ne met pas en évidence les variations observées pour les SSB complexes car la proportion de SSB complexes est faible par rapport à celle de SSB isolées. Par conséquent c'est la différence rencontrée au niveau des SSB isolées qui est prédominante.

IV.6.2 Evolution des ratios DSB/SSB

Cette section est dédiée à l'évaluation des ratios entre les dommages de type DSB et ceux de type SSB isolés étant donné que ce sont ces dommages qui contribuent le plus aux cassures simple brin de l'ADN. Ainsi, les tableaux IV-42 et IV-43 reportent les valeurs de ces ratios obtenus respectivement dans les territoires chromosomiques du fibroblaste et de l'endothélium ainsi que la différence, en %, entre ceux-ci. Ces résultats sont également représentés graphiquement sur la figure IV-21.

Tableau IV-42 : Evolution des ratios DSB/SSB en fonction du TEL des protons dans les territoires chromosomiques du fibroblaste.

TEL (keV/μm)	FIBRO TC_EU	FIBRO TC_HETERO	Différence (%)
41,9	0,409	0,492	16,9
35,2	0,350	0,412	15,0
26,9	0,277	0,327	15,3
16,9	0,189	0,217	12,9
8,3	0,121	0,141	14,2
4,8	0,084	0,111	24,3
2,7	0,055	0,074	25,7
1,3	0,025	0,045	44,4

Tableau IV-43 : Evolution des ratios DSB/SSB en fonction du TEL des protons dans les territoires chromosomiques de l'endothélium.

TEL (keV/μm)	ENDO TC_EU	ENDO TC_HETERO	Différence (%)
41,9	0,407	0,487	16,4
35,2	0,342	0,412	17,0
26,9	0,276	0,326	15,3
16,9	0,192	0,221	13,1
8,3	0,135	0,152	11,2
4,8	0,108	0,125	13,6
2,7	0,083	0,103	19,4
1,3	0,053	0,072	26,4

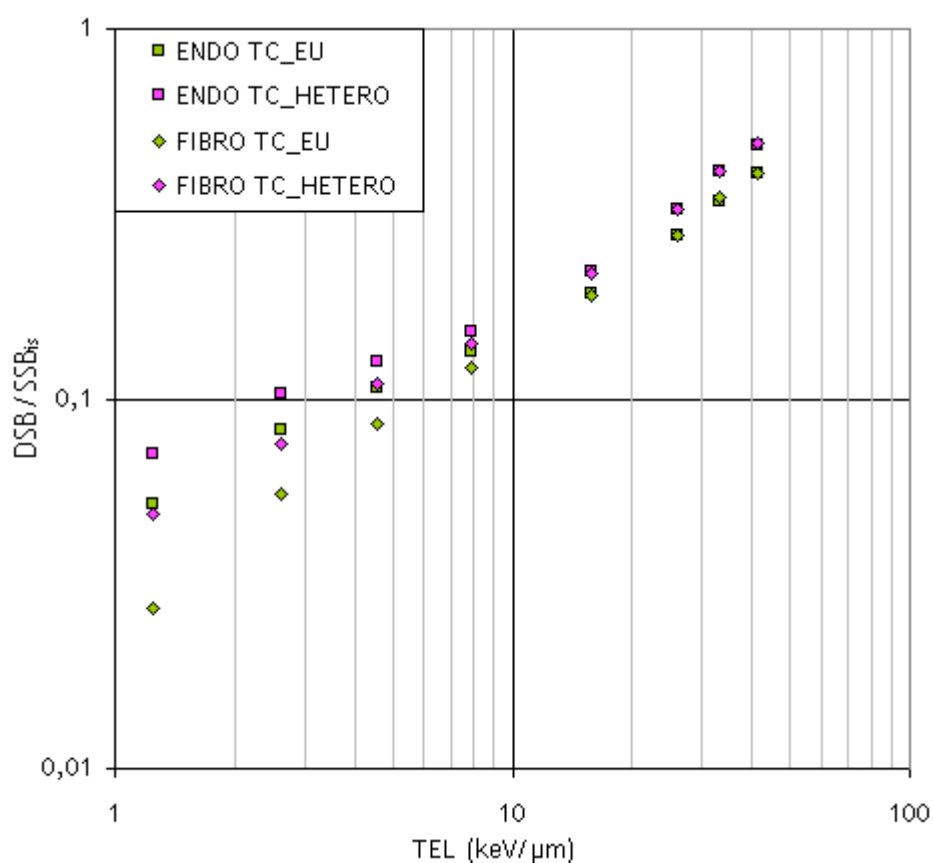


Figure IV-21 : Evolution des ratios DSB/SSB_{is} obtenus suite à des simulations avec des protons.

Concernant l'influence de la forme de la chromatine, des ratios plus élevés sont trouvés dans les territoires chromosomiques composés des fibres de chromatine. Ceci est en accord avec les résultats trouvés dans la section précédente où une plus grande proportion de DSB était trouvée dans les territoires chromosomiques composés de fibre de chromatine. La condensation de la chromatine conduit donc à une plus grande probabilité d'avoir des dépôts d'énergie assez proches pour avoir des dommages de type DSB.

De plus, ces résultats montrent une augmentation de la différence entre les formes de la chromatine pour un territoire chromosomique donné avec la diminution du TEL. Ceci est dû à la diminution de la densité de la trace avec le TEL, diminuant encore plus la probabilité d'intercepter le volume sensible dans le cas du territoire chromosomique contenant la chromatine décondensée. Ainsi, la possibilité d'avoir des lésions de type DSB est plus faible, le ratio est donc plus faible.

IV.6.3 Complexité des dommages DSB

Cette section reporte les résultats sur l'étude de la complexité des dommages DSB. Comme les résultats sur la complexité des dommages SSB évoluent de la même manière que ceux DSB, ils ont uniquement été reportés en annexe (Annexe B-1).

De plus, comme les résultats au sein des territoires chromosomiques de l'endothélium ont la même tendance que ceux obtenus dans le fibroblaste, seuls ces derniers sont reportés dans cette section. Les résultats obtenus dans les territoires chromosomiques de l'endothélium sont reportés en annexe (Annexe B-2).

Les tableaux IV-44 et IV-45 montrent l'évolution du nombre de cluster DSB ainsi que la proportion de ceux-ci par rapport au nombre de clusters total en fonction de la taille des clusters. Le tableau IV-44 concerne le territoire chromosomique contenant les fibres de chromatine et le tableau IV-45 celui contenant les nucléosomes placés de manière aléatoire.

Tableau IV-44 : DSB/p/ μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les fibres de chromatine.

TEL (keV/ μm)	Taille du cluster									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10
41,9	DSB/p/ μm	0,318	0,292	0,226	0,161	0,108	0,068	0,043	0,027	0,017
	%	24,6	22,7	17,5	12,5	8,40	5,26	3,35	2,13	1,35
35,2	DSB/p/ μm	0,308	0,271	0,190	0,129	0,082	0,048	0,029	0,017	0,010
	%	28,0	24,7	17,3	11,8	7,46	3,38	2,66	1,56	0,92
26,9	DSB/p/ μm	0,252	0,201	0,137	0,078	0,046	0,027	0,015	0,008	0,005
	%	32,6	26,0	17,6	10,1	5,94	3,52	1,99	1,10	0,59
16,9	DSB/p/ μm	0,155	0,106	0,063	0,033	0,017	0,010	0,004	0,002	0,001
	%	39,5	27,0	16,1	8,52	4,30	2,48	1,01	0,52	0,30
8,3	DSB/p/ μm	0,063	0,040	0,026	0,010	0,006	0,003	0,001	$8 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
	%	42,5	27,3	15,2	7,04	4,06	2,05	0,98	0,51	0,09
4,8	DSB/p/ μm	0,032	0,019	0,010	0,005	0,002	0,001	$9 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
	%	44,9	26,2	14,0	7,62	3,45	1,92	1,32	0,22	0,16
2,7	DSB/p/ μm	0,013	0,008	0,004	0,002	0,001	$6 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-5}$
	%	45,6	25,6	13,2	6,91	4016	2,28	1,14	0,74	0,20
1,3	DSB/p/ μm	0,004	0,002	0,002	$7 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	-	$4 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-5}$
	%	44,6	25,0	16,6	6,76	4,09	1,84	-	0,41	0,41

Tableau IV-45 : DSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les nucléosomes.

TEL (keV/μm)	Taille du cluster									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10
41,9	DSB/p/μm	0,293	0,263	0,191	0,131	0,086	0,049	0,032	0,019	0,012
	%	26,8	24,0	17,5	12,0	7,81	4,50	2,96	1,69	1,05
35,2	DSB/p/μm	0,282	0,235	0,159	0,104	0,060	0,035	0,020	0,012	0,007
	%	30,6	25,5	17,3	11,3	6,47	3,81	2,19	1,31	0,77
26,9	DSB/p/μm	0,221	0,171	0,109	0,061	0,036	0,019	0,010	0,006	0,003
	%	34,5	26,8	17,1	9,56	5,58	3,01	1,50	0,90	0,47
16,9	DSB/p/μm	0,134	0,088	0,046	0,025	0,014	0,006	0,004	0,002	0,001
	%	41,8	27,4	14,5	7,90	1,39	1,79	1,20	0,52	0,30
8,3	DSB/p/μm	0,054	0,032	0,017	0,010	0,004	0,002	0,001	$7 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$
	%	44,7	26,4	14,1	8,06	3,28	1,72	0,81	0,55	0,20
4,8	DSB/p/μm	0,024	0,015	0,007	0,004	0,002	0,001	$3 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$
	%	44,6	27,7	13,6	7,07	3,61	1,95	0,51	0,32	0,32
2,7	DSB/p/μm	0,010	0,005	0,003	0,002	$9 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$
	%	46,5	24,5	14,3	7,92	4,00	1,16	1,16	0,28	0,09
1,3	DSB/p/μm	0,002	0,001	$7 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-4}$	-	-
	%	45,9	27,7	12,0	6,55	4,00	1,82	1,46	-	-

Ces résultats montrent que quel que soit la condensation de la chromatine, pour un TEL donné, le nombre et la proportion de clusters diminuent avec l'augmentation de la taille du cluster. De plus, avec la diminution du TEL, la proportion de petits clusters augmente alors que celle de gros clusters diminue.

Ces résultats montrent également que, pour toutes les tailles de cluster, il y a toujours une plus grande quantité de dommages dans le territoire chromosomique contenant les fibres de chromatine et ce pour tous les TEL simulés.

De plus, concernant la proportion des clusters pour une taille donnée, nous pouvons observer que pour un TEL donné, les clusters de 2 et 3 points sont en plus grande proportion dans le territoire chromosomique contenant les nucléosomes et cette tendance s'inverse lorsque la dimension du cluster continue à augmenter. De manière à visualiser cette évolution, la figure IV-22 reporte la proportion de clusters en fonction de leur dimension pour les protons de 0,5 et 1 MeV.

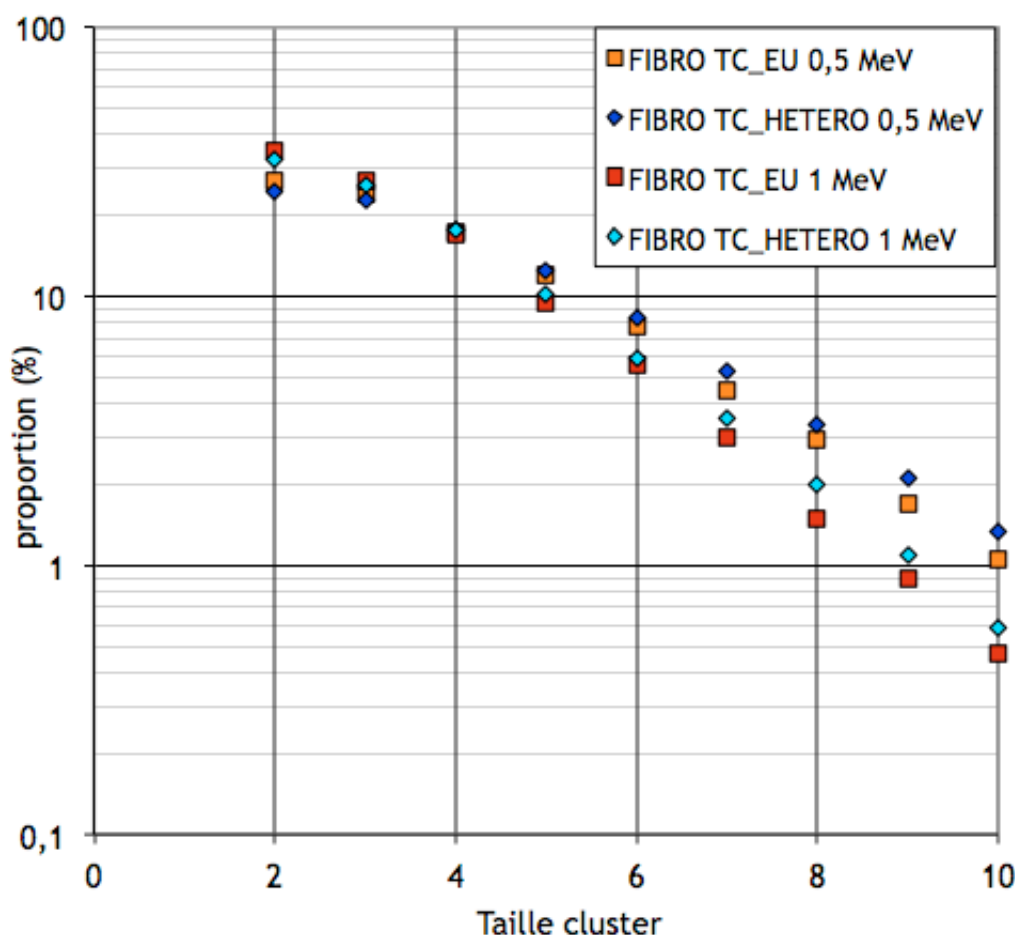


Figure IV-22 : Proportion des clusters en fonction de leur complexité pour des protons des 0.5 MeV obtenus dans les deux territoires chromosomiques du fibroblaste.

Ces résultats montrent que, lorsque la chromatine est décondensée, on a une plus grande probabilité d'avoir des clusters peu complexes (2 ou 3 dépôts d'énergie) et, à partir des clusters composés de 4 dépôts d'énergie la tendance s'inverse mettant donc en évidence que l'on a une plus forte probabilité d'avoir plus de clusters complexes lorsque la chromatine est condensée. Ainsi, la condensation de la chromatine peut contribuer à la formation de dommages plus complexes et ainsi augmenter les difficultés des processus de réparations cellulaires.

IV.6.4 Conclusion sur l' influence de la forme de la chromatine

Cette section a été dédiée à la mise en évidence de l'influence de la forme de la chromatine sur le nombre et la complexité des clusters directs induits par des protons.

Cette étude nous a permis de montrer que la quantité de clusters (SSB ou DSB) est toujours plus importante dans les géométries contenant des morceaux de fibre de chromatine c'est-à-

dire là où la chromatine est la plus condensée. Ces résultats ont également montré que la différence entre les deux formes de la chromatine était d'autant plus importante avec la diminution du TEL des particules primaires. De plus, concernant la complexité de ces dommages, notamment celle des candidats aux DSB, nous avons pu montrer que celle-ci est également plus importante dans les territoires chromosomiques où la chromatine est la plus condensée.

Ainsi, la condensation de la chromatine au sein des noyaux cellulaires, tout comme la densité d'ADN, a une influence sur le nombre et la complexité des dommages dus aux effets directs des rayonnements induits dans l'ADN.

IV.7 Références

[BEL98]

M. Belli, F. Cera, R. Cherubini, M. Dalla Vecchias, A. M. I. Haques, F. Ianzini, G. Moschini, O. Sapora, G. Simone, M. A. Tabocchini, P. Tiveron.

RBE-LET relationships for cell inactivation and mutation induced by low energy protons in V79 cells: further results at the LNL facility.

International Journal of Radiation Biology 74 (1998) 501-509.

[BOT97]

S.W. Botchway, D.L. Stevens, M.A. Hill, T.J. Jenner, P. O'Neill.

Induction and rejoining of DNA double strand breaks in Chinese hamster V79-4 cells irradiated with characteristics Aluminium K and copper L ultrasoft X-rays.

Radiation Research 148 (1997) 317-324.

[CAM05]

A. Campa, F. Ballarini, M. Belli, R. Cherubini, V. Dini, G. Esposito, W. Friedland, S. Gerardi, S. Molinelli, A. Ottolenghi, H. Paretzke, G. Simone, M. A. Tabocchini.

DNA DSB induced in human cells by charged particles and gamma rays: experimental results and theoretical approaches.

International Journal of Radiation Biology 81 (2005) 841-854.

[DOS13a]

M. Dos Santos, C. Villagrasa, I. Clairand, S. Incerti.

Influence of the DNA density on the number of clustered damages created by protons of different energies

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 298 (2013) 47-54.

[DOS13b]

M. Dos Santos, C. Villagrasa, I. Clairand, S. Incerti.

Influence of the chromatin density on the number of direct clustered damages calculated for proton and alpha irradiations using a Monte Carlo code.

Proceedings on the International conference on radiation shielding, Nara, Japan (2012). Published in Progress in Nuclear Science and Technology.

[ELS10]

T. Elsasser, W. K. Weyrather, T. Friedrich, M. Durante, G. Iancu, M. Kramer, G. Kragl, S. Brons, M. Winter, K-J. Weber, M. Scholz.

Quantification of the relative biological effectiveness for ion beam radiotherapy: direct experimental comparison of proton and carbon ion beams and a novel approach for treatment planning.

International Journal of Oncology Biology Physics 78 (2010) 1177-1183.

[FAL10]

M. Falk, E. Lukasova, S. Kozubek

Higher order chromatin structure in DSB induction, repair and misrepair

Mutation Research 704 (2010) 88-100.

[FRA99]

D. Frankenberg, H. J. Brede, U. J. Schrewe, C. Steinmetz, M. Frankenberg-Schwager, G. Kasten, E. Pralle.

Induction of DNA double strand breaks by ^1H and ^4He ions in primary human skin fibroblasts in the LET range of 8 to 124 keV/ μm .

Radiation Research 151 (1999) 540-549.

[FRI03]

W. Friedland, P. Jacob, P. Bernhardt, H.G. Paretzke, M. Dingfelder.

Simulation of DNA damage after proton irradiation.

Radiation Research 59 (2003) 401-410.

[FRI11]

W. Friedland, M. Dingfelder, P. Kundrat, P. Jacob.

Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC.

Mutation Research 711 (2011) 28-40.

[FUL01]

J. Fulford, H. Nikjoo, D. T. Goodhead, P. O'Neill.

Yields of SSB and DSB induced in DNA by AlK ultrasoft X rays and α -particles: comparison of experimental and simulated yields.

International Journal of Radiation Biology 77 (2001) 1053-1066.

[FUR00]

Y. Furusawa, K. Fukutsu, M. Aoki, H. Itsukaichi, K. Eguchi-Kasai, H. Ohara et al.

Inactivation of aerobic and hypoxic cells from three different cell lines by accelerated (3)He, (12)C and (20)Ne-ion beams.

Radiation Research 154 (2000) 485-496.

[GOO12]

A. A. Goodarzi, P. A. Jeggo.

The heterochromatic barrier to DNA double strand break repair: how to get the entry visa.

International Journal of Molecular Sciences 13 (2012) 11844-11860.

[JAK08]

O. Jakel.

The relative biological effectiveness of proton and ion beams.

Zeitschrift für Medizinische Physik 18 (2008) 276-285.

[JAK11]

B. Jakob, J. Splinter, S. Conrad, K. Voss, D. Zink, M. Durante, M. Lobrich G. Taucher-Scholz,

DNA double strand breaks in heterochromatin elicit fast repair protein recruitment, histone H2AX phosphorylation and relocation to euchromatine

Nucleic Acids Research 39 (2011) 6489-6499.

[LEL05]

C. leloup, G. Garty, G. Assaf, A. Cristovao, A. Breskin, R. Chechik, S. Schhemelinin, T. Paz-Elizur, Z.

Livneh, R. W. Schulte, V. Bashkirov, J. R. Milligan, B. Grosswendt.

Evaluation of lesion clustering in irradiated plasmid.

International Journal of Radiation Biology 81 (2005) 41-45.

[PAG02]

H. Paganetti, A. Niemierko, M. Ancukiewicz, L. E. Gerweck, M. Goitein, J. S. Loeffler, H. D. Suit.

Relative biological effectiveness (RBE) values for proton beam therapy.

International Journal of Oncology Biology Physics 53 (2002) 407-421.

Conclusion générale

Les rayonnements ionisants sont connus pour induire des dommages critiques dans la matière biologique en particulier dans l'ADN qui est considéré comme la cible privilégiée responsable de l'inactivation cellulaire induite par les rayonnements ionisants. Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre du projet ROSIRIS mené à l'institut, et porte en particulier sur la modélisation des dépôts d'énergie créés par l'irradiation au niveau intracellulaire. Ces dépôts d'énergie sont à l'origine de dommages critiques, notamment les cassures double brin (DSB) de l'ADN, qui sont étudiées expérimentalement par les radiobiologistes de l'IRSN (PRP-HOM/SRBE/LDB). Pour l'étude des dommages à cette échelle, il est nécessaire de connaître avec précision, d'une part, le détail nanométrique de la topologie des dépôts d'énergie qui ne peut être étudié que par modélisation Monte-Carlo et, d'autre part, la géométrie de la cible étudiée. En effet, l'étude de l'interaction de différents types de rayonnements, dans le but d'en caractériser l'impact sur la molécule ADN, est un domaine de la dosimétrie pour lequel la structure de l'ADN et sa conformation au sein des noyaux cellulaires revêt au moins autant d'importance que la simulation des interactions des particules elles-mêmes.

Ainsi, le premier objectif de ce travail de thèse a été d'intégrer, au sein du code de calcul Monte-Carlo Geant4 utilisé pour réaliser les simulations, la géométrie de la cible nécessaire à l'analyse des effets biologiques radio-induits. Notre travail a d'abord consisté à élaborer un modèle de noyau se rapprochant le plus possible de la forme réelle des différents niveaux de compaction selon le cycle cellulaire. Ainsi, deux noyaux cellulaires représentant respectivement un fibroblaste et un endothélium en phase G0/G1 ont été construits et introduits au sein du code de calcul afin d'évaluer l'influence de la densité d'ADN sur les résultats des modélisations. Le contenu en ADN de ces deux noyaux a été divisé en 5 niveaux de compaction : double hélice de l'ADN (différenciant les bases azotées et les groupes phospho-diester), nucléosomes, bâtonnets de chromatine, boucles de chromatine et enfin les territoires chromosomiques. La principale différence entre les deux noyaux est le volume relatif occupé par l'ADN au sein de ceux-ci. En effet, le noyau de fibroblaste ayant un volume trois fois plus grand que celui de l'endothélium, l'ADN est plus compacté dans ce dernier (facteur 3,3 entre les noyaux). Grâce à l'implémentation du génome complet de ces deux noyaux cellulaires, il nous a alors été possible d'étudier les dommages induits dans des noyaux de types cellulaires différents pour les mêmes irradiations mais également de quantifier les dommages à l'ADN (nanométrique) à l'échelle du noyau cellulaire (micrométrique). Grâce à cela, il a alors été possible de quantifier les dommages DSB et SSB dans le noyau cellulaire permettant ainsi d'avoir une vision multi-échelle des dommages radio-induits sur l'ADN.

Ces noyaux cellulaires ont ensuite été utilisés en tant que cible de la simulation Monte-Carlo et nous ont permis de faire une première sélection des dépôts d'énergie pouvant être à l'origine d'une cassure directe de l'ADN car localisés dans les groupes sucre / phosphate. Ainsi, la géométrie

implémentée dans Geant4 apparaît donc comme un outil permettant d'analyser la trace des particules simulées. Un algorithme de clustérisation a ensuite été utilisé pour analyser les dépôts d'énergie localisés dans le squelette de l'ADN (groupes sucre / phosphate) afin de détecter ceux étant suffisamment proches sur le plan spatial pour pouvoir former des agrégats de dépôts d'énergie, pouvant conduire à des cassures simple ou doubles brins de l'ADN.

Une fois les modèles géométriques intégrés au code de calcul, des simulations avec des protons et des alphas ont été réalisées de manière à évaluer l'influence de la densité d'ADN et du type d'irradiation sur le nombre et la complexité des dommages induits par les effets directs de ces rayonnements. Ces simulations ont permis de montrer que l'augmentation de la densité d'ADN augmente le nombre et la complexité des dommages de types SSB et DSB. Nous avons montré qu'il y a toujours davantage de dommages, DSB et SSB, au sein du noyau de l'endothélium, c'est-à-dire dans le cas où la densité d'ADN est la plus élevée, et cette différence a été quantifiée par particule et par micromètre. Cette augmentation au niveau du nombre de dommages par particule et par micromètre dans l'endothélium est directement liée au rapport de volumes entre les deux noyaux, car, quel que soit le TEL et le dommage considéré il existe un facteur 3,3 entre les dommages, reflétant l'homogénéité de la cible au niveau micrométrique (dû au fait que les dommages sont normalisés par la valeur moyenne de l'épaisseur traversée par les particules). Néanmoins ce facteur 3,3 n'est plus conservé lorsque les dommages sont évalués de manière totale, c'est-à-dire sans diviser par l'épaisseur moyenne traversée. En effet, un nombre plus élevé de dommages sont identifiés dans l'endothélium car, bien que celui-ci soit moins volumineux, il est plus dense que le fibroblaste au niveau nanométrique. Il apparaît ainsi que la géométrie de la cible est un facteur indispensable pour l'étude des dommages radio-induits à l'ADN. Ainsi, ces résultats nous ont permis de suggérer que la densité d'ADN liée au type cellulaire pourrait avoir une influence sur les capacités de réparation des cellules du fait d'un plus grand nombre de dommages, également plus complexes, dans les noyaux où la densité est la plus élevée.

Parallèlement à cela, ce travail a également permis de montrer que les rayons des clusters SSB ou DSB augmentent avec le TEL et que la majorité des clusters ont des dimensions inférieures aux 3,2 nm définies comme paramètre d'entrée pour la clusterisation. Enfin, concernant les dimensions des DSB en fonction de leur complexité, nous avons observé que pour une complexité donnée, la dimension du rayon augmente avec le TEL jusqu'à atteindre un maximum à 30-35 keV/ μ m puis diminue, ceci étant lié à la topologie de la trace et plus particulièrement aux électrons secondaires générés.

Enfin, concernant l'influence du type d'irradiation, nous avons pu mettre en évidence que, pour un même TEL, des simulations avec des protons conduisent à une plus grande quantité de dommages qui sont également plus complexes que pour des irradiations alpha.

Néanmoins nos résultats n'ont pu être comparés qu'à très peu de données extraites de la littérature car, d'une part, il y a peu d'études concernant l'influence de la densité d'ADN et, d'autre part, nos

résultats ne concernent que les effets directs des rayonnements ionisants. En effet, les données extraites de la littérature, obtenues expérimentalement ou par calcul Monte-Carlo, concernent les effets cumulés directs et indirects des rayonnements ionisants prenant ainsi en compte toutes les étapes (physique, chimique et biologique) depuis les toutes premières interactions de la particule dans la matière jusqu'à l'apparition de l'effet biologique considéré. Néanmoins, bien que ce travail ne concerne que les effets directs des rayonnements ionisants, des tendances similaires aux résultats extraits de la littérature ont été observées. De plus, il est important de noter que, le plus souvent, les résultats des études extraites de la littérature sont exprimés pour une dose globale donnée perdant ainsi l'information sur la quantification des dommages par trace.

Ainsi, dans un second temps, nous avons voulu quantifier les dommages DSB par micromètre pour une dose donnée de manière à évaluer en quoi le fait de traiter les traces ensemble ($1 \text{ Gy} = X \text{ traces}$ traitées ensemble avec DBSCAN) ou séparément ($1 \text{ Gy} = X \text{ traces} * \text{DSB/p}/\mu\text{m}$) lors de la clusterisation pouvait avoir une influence sur les résultats. Cette étude a permis de montrer que pour des protons ayant des énergies supérieures à 10 MeV, le fait de traiter les traces ensemble lors de la clustérisation fait apparaître un palier de saturation alors que par l'autre méthode, normalement utilisée par d'autres auteurs pour calculer le nombre de DSB/Gy, le nombre de dommages par gray continue à diminuer. Ceci est lié au grand nombre de traces nécessaires pour obtenir une dose donnée, les traces ne sont donc plus indépendantes lors de la clustérisation et les dommages contiennent des dépôts d'énergie de différentes particules initiales. Par conséquent, la probabilité d'avoir des dépôts d'énergie assez proches pour pouvoir conduire à des cassures double brin de l'ADN ne diminue plus.

Ensuite, nous avons quantifié la probabilité que les dépôts d'une trace interceptent la cible d'ADN étant donné que celui-ci ne représente que quelques pourcents du volume total du noyau cellulaire bien qu'il y soit réparti de manière homogène. Nous avons observé que l'évolution de cette probabilité avec le TEL a la même forme que celle de l'évolution des EBR avec le TEL. En effet, la probabilité de toucher l'ADN augmente jusqu'à atteindre un maximum pour les TEL de $\sim 30 \text{ keV}/\mu\text{m}$ pour les protons et $\sim 60 \text{ keV}/\mu\text{m}$ pour les alphas (proton de 1 MeV et alpha de 10 MeV) puis diminue lorsque le TEL continue d'augmenter. Ainsi, les protons de 1 MeV et les alphas de 10 MeV apparaissent comme étant ceux qui contribuent le plus aux dommages induits dans la cible du fait des dimensions de celle-ci et de sa distribution au sein des noyaux cellulaires en lien avec les dimensions propres de la trace. Ces résultats ont permis de mettre en évidence que l'énergie absorbée par l'ADN n'est pas une fraction constante de la dose absorbée (macroscopique) utilisée pour les EBR et que celle-ci est surestimée. Ensuite, une étude sur l'influence du paramètre RMS choisi dans les paramètres de clusterisation a été réalisée. Cette étude a permis de montrer que ce paramètre a une influence non négligeable sur la formation des clusters pour les TEL les plus élevés c'est-à-dire pour les traces les plus denses et compactes. Nous avons observé une saturation du nombre de clusters avec l'augmentation du TEL pour les RMS supérieurs à 10 nm. Cette saturation

apparaît à partir de 30 keV/ μm pour les protons et de 90 keV/ μm pour les alphas (protons de 1 MeV et alpha de 5 MeV) TEL à partir desquels toute la pénombre de la trace est prise en compte avec un rayon de 10 nm. Nous pouvons également observer que la forme de ces résultats est la même que celle des EBR avec l'augmentation du TEL et que les maximums de ces courbes sont obtenus pour les mêmes TEL.

Puis, de manière à évaluer l'influence de la forme des noyaux cellulaires, un nouveau noyau de type endothélium, ayant une forme cylindrique a été implémenté de manière à ce que nos résultats, bien que ne concernant que les dommages directs, puissent être comparées à ceux obtenus avec le code PARTRAC où un noyau de type fibroblaste de forme cylindrique est utilisé comme cible pour les modélisations [FRI11]. Ainsi, des simulations avec des protons ont été réalisées dans le noyau de forme cylindrique et ces résultats n'ont pas montré des différences significatives par rapport aux résultats obtenus dans le noyau d'endothélium de forme ellipsoïdale. Ainsi, nous avons pu montrer que ce n'est pas tant la forme du noyau cellulaire qui est importante mais bien le volume de celui-ci.

Enfin, de manière à évaluer l'influence de la décondensation de la chromatine, des territoires chromosomiques contenant des nucléosomes placés de manière aléatoire dans le volume (chromatine décondensée / euchromatine) ont été comparés aux résultats de territoires chromosomiques contenant des boucles de chromatines (chromatine condensée / hétérochromatine). Des simulations avec des protons et des alphas ont été réalisées et nous avons pu montrer que la condensation de la chromatine augmente le nombre et la complexité des dommages de types DSB et SSB complexes. En effet, concernant la quantification des dommages, une augmentation croissante de la différence entre les formes de la chromatine a été observée avec la diminution du TEL. Pour les DSB, cette différence augmente de 15 à 44 % pour le territoire chromosomique du fibroblaste et de 13 à 22 % pour le territoire chromosomique de l'endothélium. Pour les SSB complexes cette augmentation de la différence passe de -2,2 à 50 % pour le territoire chromosomique du fibroblaste et de -5,84 à 14,3 % pour le territoire chromosomique de l'endothélium. En effet, pour les deux plus haut TEL (41,9 et 35,2 keV/ μm) ce sont dans les territoires chromosomiques contenant la chromatine décondensée qu'il y a le plus de dommages puis, avec la diminution du TEL, à partir de 30 keV/ μm , cette tendance s'inverse, plus de dommages sont trouvés dans les territoires chromosomiques contenant de la chromatine condensée.

Ainsi, ce travail de thèse a permis de quantifier et d'interpréter que la densité d'ADN, sa conformation au sein des noyaux cellulaires (hétéro/euchromatine) et la qualité du rayonnement ont une influence sur les dommages induits au sein de la molécule d'ADN. Il a également été montré que c'est pour les protons de 1 MeV (~ 30 keV/ μm) et les alphas de 10 MeV (~ 60 keV/ μm) que les

traces apparaissent comme étant celles qui contribuent le plus aux dommages induits dans la cible du fait des dimensions de celle-ci et de sa distribution au sein des noyaux cellulaires.

Plusieurs voies de développement peuvent être envisagées pour la suite de ce travail. La première voie de développement concerne l'amélioration du modèle géométrique dans la mesure où des tables de sections efficaces pour les bases et le squelette de l'ADN (sucre / phosphate) seront bientôt disponibles dans Geant4. Ainsi, il sera nécessaire de différencier les sucres et les phosphates qui, dans ce travail, ne constituent qu'un seul volume. Pour les bases de l'ADN, bien que celles-ci soient déjà prises en compte dans la géométrie, il sera nécessaire de les différencier de manière à bien prendre en compte les quatre types de base.

La seconde voie de développement concerne la modélisation des effets indirects des rayonnements ionisants. Grâce au travail réalisé par M. Karamitros [KAR12] au Centre d'Etudes Nucléaires de Bordeaux Gradignan (CENBG), les éléments nécessaires à la simulation des étapes physico-chimiques et chimiques des rayonnements ionisants dans l'eau liquide existent dans Geant4. Néanmoins, pour le moment, cette simulation ne tient pas encore compte de la géométrie d'une cible. Mais, dans la suite du projet Geant4-DNA [INC10], il est prévu d'implémenter une cible d'ADN adaptée à la prise en compte des dommages indirects. Comme nous l'avons précisé dans le chapitre III consacré à la présentation de la géométrie, des régions entourant les bâtonnets de chromatine ont été définies pour la prise en compte des effets indirects, et les dépôts d'énergie localisés dans ces régions ont été stockés dans des fichiers. Ainsi, dans une première approche, ces dépôts d'énergie pourront être utilisés comme fichier d'entrée pour la modélisation des étapes physico-chimiques et ainsi évaluer l'influence des effets directs et indirects des rayonnements ionisants.

Enfin, les données simulées pourront être comparées aux expériences de radiobiologie réalisées actuellement au PTB (Physikalisch-Technischen Bundesanstalt), qui est l'institut national de métrologie allemand, dans le cadre du projet européen BioQuaRT (juin 2012 - juin 2015) [WEB01] où des monocouches de cellules de types fibroblaste et endothélium sont irradiées avec différents types de particules et d'ions légers grâce à un microfaisceau (protons de 3 et 10 MeV, et alphas de 8 et 20 MeV). L'étude de la corrélation entre la topologie des dépôts d'énergie et les données biologiques reposera sur l'analyse statistique d'un volume important de données simulées et de données expérimentales. En effet, comme il n'est pas possible à partir d'un événement biologique de remonter directement à son dépôt d'énergie, on ne pourra rechercher des corrélations qu'à partir de paramètres statistiquement représentatifs des topologies des dépôts d'énergie et des événements biologiques.

Références

[FRI11]

W. Friedland, M. Dingfelder, P. Kundrat, P. Jacob.

Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC.

Mutation Research 711 (2011) 28-40.

[INC10]

S. Incerti, A. Ivanchenko, M. Karamitros, A. Mantero, P. Moretto, H. N. Tran, B. Mascialino, C. Champion, V. N. Ivanchenko, M. A. Bernal, Z. Francis, V. Villagrasa, G. Baldacchino, P. Guèye, R. Capra, P. Nieminen, C. Zacharatou.

Comparison of Geant4 very low energy cross section models with experimental data in water.

Medical Physics 37 (2010) 4692-4708.

[KAR12]

M. Karamitros.

Extension de l'outil Monte Carlo généraliste Geant4 pour la simulation de la radiolyse de l'eau dans le cadre du projet Geant4-DNA

Rapport de thèse, Université Bordeaux 1 (2012).

[WEB01]

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/af/DBSCAN-Illustration.svg/500px-DBSCAN-Illustration.svg.png>

Annexes

A- Etude sur les rayons des clusters pour les irradiations alpha

De la même manière que pour les simulations avec les protons nous avons étudié l'évolution des rayons moyens de clusters ainsi que la proportion des clusters en fonction de leurs dimensions.

A.1- Rayon moyen des clusters

Le tableau A-1 reporte l'évolution du rayon moyen des clusters SSB et DSB au sein des deux noyaux cellulaires en fonction du TEL des alphas initiaux.

Tableau A-1 : Rayon moyen des clusters de type SSB et DSB au sein des deux noyaux cellulaires.

E (MeV)	TEL (keV/μm)	Rayon moyen des SSB (nm)		Rayon moyen des DSB (nm)	
		Endothélium	Fibroblaste	Endothélium	Fibroblaste
2	162,5	0,605	0,624	1,325	1,380
5	88,55	0,553	0,541	1,170	1,161
10	53,44	0,524	0,522	1,117	1,115
15	39,30	0,504	0,509	1,091	1,097
17,5	34,89	0,499	0,501	1,085	1,091
25	26,41	0,488	0,490	1,065	1,067
50	15,17	0,477	0,445	1,066	1,046

Quel que soit le type d'irradiation le même comportement est observé et les mêmes conclusions ont pu être tirées. A savoir que, comme pour les simulations avec les protons nous pouvons observer que le rayon moyen des clusters diminue avec la diminution du TEL. Nous pouvons également observer que le rayon moyen des DSB est toujours supérieur à celui des SSB. Néanmoins contrairement aux simulations protons, il y a peu de différence entre les dimensions des clusters en fonction du type cellulaire hormis pour les alphas de 2 MeV où les rayons des clusters dans le fibroblaste sont plus élevés.

A.2- Evolution de la proportion des clusters en fonction de leurs dimensions

Cette section reporte l'évolution de la proportion des clusters en fonction de la dimension de ceux-ci. La figure A-1 concerne le noyau de l'endothélium tandis que la figure A-2 concerne les résultats obtenus dans le fibroblaste suite aux simulations avec les alphas.

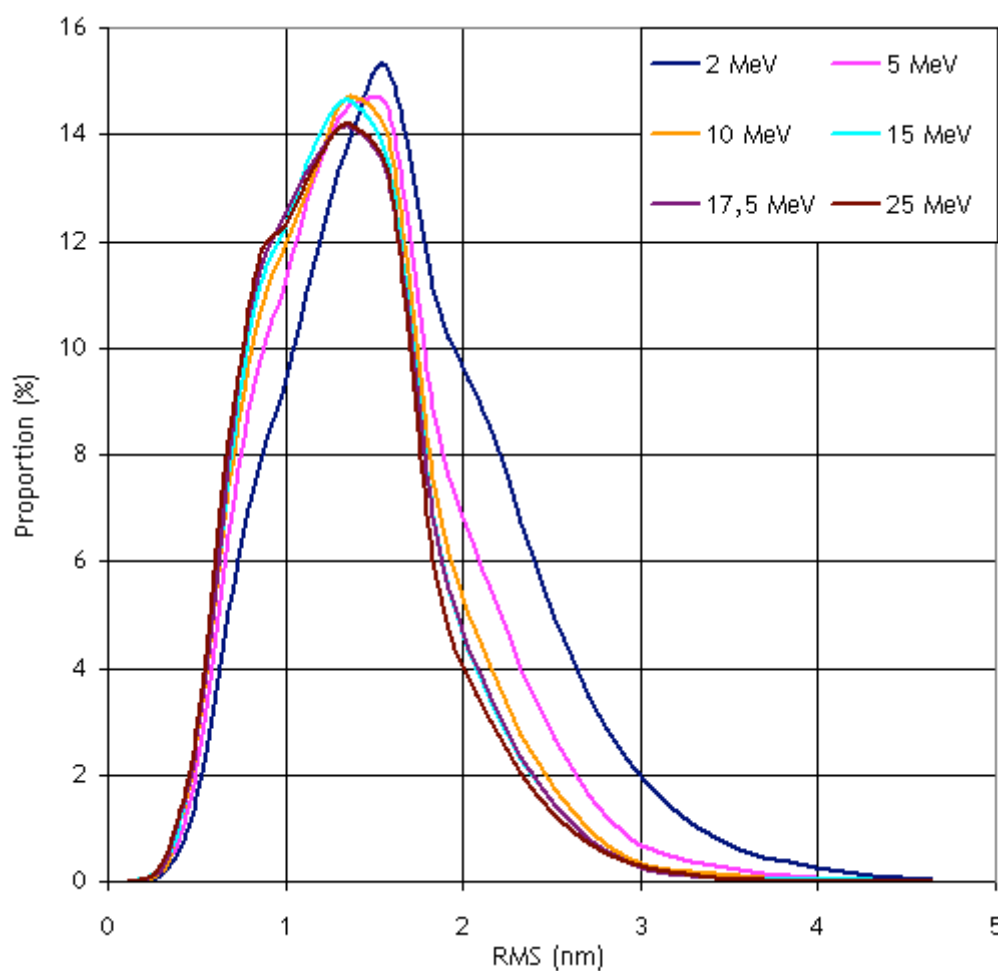


Figure A-1 : Evolution de la proportion de clusters en fonction de leur taille dans l'endothélium.

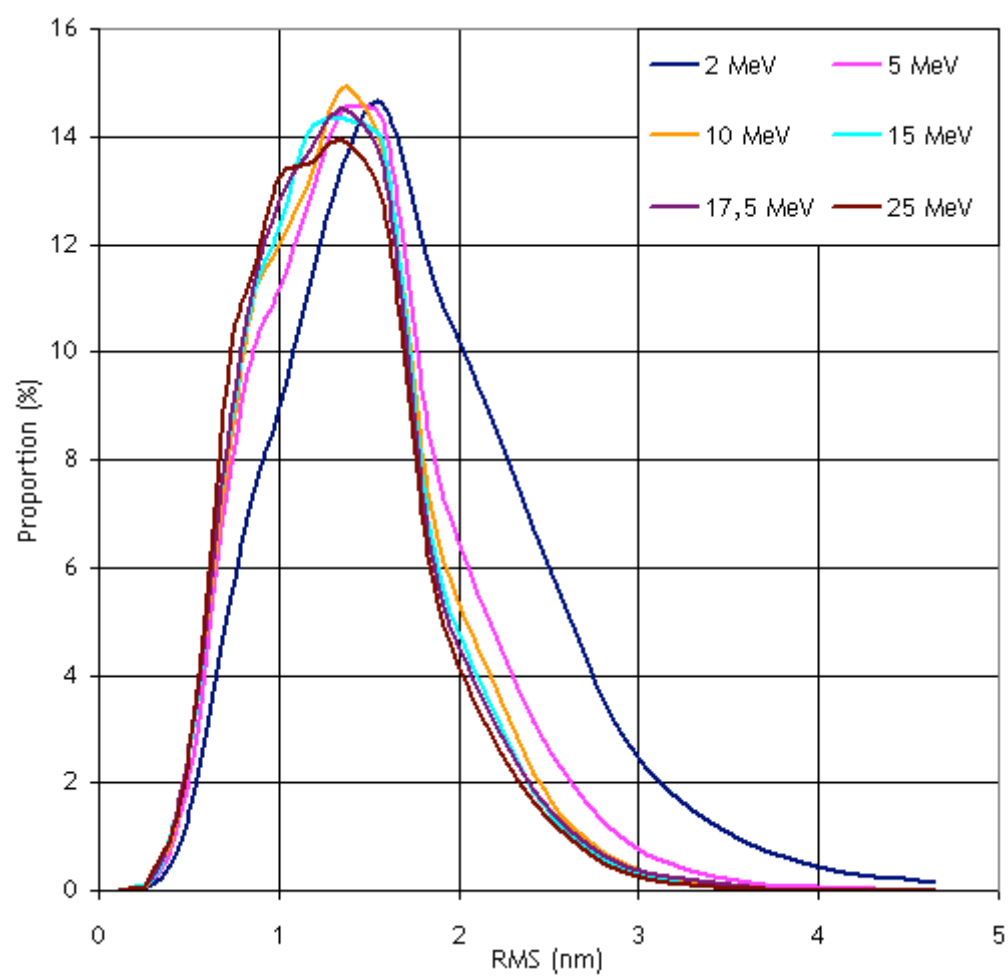


Figure A-2 : Evolution de la proportion de clusters en fonction de leur taille dans le fibroblaste.

B- Simulations dans les territoires chromosomiques isolés- Influence de la décondensation de la chromatine

B.1- Complexité des dommages SSB au sein des territoires chromosomiques du fibroblaste

De la même manière que pour les DSB nous avons analysé la complexité des dommages de types SSB (cf. tableaux B-2 et B-3).

Tableau B-2 : SSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les fibres de chromatine.

TEL \ Taille du cluster (keV/μm)		2	3	4	5	6	7	8
41,9	SSB/p/μm	0,768	0,321	0,144	0,064	0,030	0,013	0,006
	%	56,8	23,7	10,7	4,72	2,24	0,95	0,47
35,2	SSB/p/μm	0,715	0,287	0,118	0,051	0,021	0,010	0,003
	%	59,1	23,8	9,80	4,22	1,75	0,86	0,25
26,9	SSB/p/μm	0,597	0,218	0,083	0,033	0,013	0,005	0,002
	%	62,7	2,9	8,68	3,45	1,42	0,53	0,23
16,9	SSB/p/μm	0,390	0,127	0,043	0,016	0,005	0,002	0,001
	%	66,8	21,7	7,32	2,70	0,91	0,30	0,17
8,3	SSB/p/μm	0,178	0,051	0,017	0,005	0,002	$9 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-4}$
	%	69,8	20,0	6,70	2,01	0,91	0,35	0,14
4,8	SSB/p/μm	0,090	0,023	0,007	0,003	0,001	$2 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
	%	72,0	18,5	5,85	2,31	1,19	0,13	0,09
2,7	SSB/p/μm	0,040	0,010	0,003	0,001	$2 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-5}$
	%	72,8	17,9	6,21	2,20	0,37	0,37	0,07
1,3	SSB/p/μm	0,012	0,003	0,001	$3 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-5}$
	%	72,0	18,1	7,10	1,54	0,36	0,47	0,36

Tableau B-3 : SSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les nucléosomes.

TEL \ Taille du cluster (keV/μm)		2	3	4	5	6	7	8
41,9	SSB/p/μm	0,783	0,330	0,142	0,066	0,031	0,013	0,007
	%	56,9	24,0	10,3	4,77	2,22	0,97	0,49
35,2	SSB/p/μm	0,715	0,282	0,122	0,049	0,021	0,010	0,004
	%	59,2	23,4	10,1	4,09	1,78	0,85	0,34
26,9	SSB/p/μm	0,595	0,218	0,086	0,033	0,014	0,004	0,002
	%	62,4	22,8	8,98	3,45	1,47	0,45	0,22
16,9	SSB/p/μm	0,380	0,122	0,042	0,015	0,005	0,002	8.10 ⁻⁴
	%	66,9	21,5	7,47	2,72	0,87	0,38	0,14
8,3	SSB/p/μm	0,170	0,045	0,016	0,006	0,002	4.10 ⁻⁴	4.10 ⁻⁴
	%	71,1	18,8	6,65	2,35	0,77	0,17	0,17
4,8	SSB/p/μm	0,078	0,019	0,007	0,002	6.10 ⁻⁴	2.10 ⁻⁴	4.10 ⁻⁵
	%	72,9	17,8	6,35	2,10	0,59	0,22	0,04
2,7	SSB/p/μm	0,031	0,007	0,003	0,001	3.10 ⁻⁴	4.10 ⁻⁵	6.10 ⁻⁵
	%	72,5	17,5	6,80	2,25	0,78	0,09	0,14
1,3	SSB/p/μm	0,008	0,002	6.10 ⁻⁴	2.10 ⁻⁴	2.10 ⁻⁵	4.10 ⁻⁵	-
	%	73,3	19,1	5,14	2,02	0,18	0,37	-

Concernant la complexité des SSB complexes, peu de différences sont observées entre les résultats tant au niveau de la quantité que de la proportion que représentent les SSB complexes par rapport au nombre de SSB total. Ce n'est que pour les TEL les plus faibles, 1,3 à 4,8 keV/μm, que l'on observe une différence au niveau de la quantité de dommages pour une taille donnée. A savoir, il y a toujours plus de dommages qui sont trouvés dans le territoire chromosomique composé de fibre de chromatine. Ceci est à relier à la densité de la trace qui est faible et à la décondensation de la chromatine comme expliqué dans les sections précédentes.

B.2- Complexité des dommages au sein des territoires chromosomiques de l'endothélium

B.2.1- Complexité des DSB

Le tableau B-4 concerne le territoire chromosomique contenant les fibres de chromatine et le tableau B-5 concerne le territoire chromosomique contenant les nucléosomes placés de manière aléatoire.

Tableau B-4 : DSB/p/μm et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les fibres de chromatine.

Taille du TEL cluster (keV/μm)		2	3	4	5	6	7	8	9	10
41,9	DSB/p/μm	0,982	0,931	0,694	0,486	0,318	0,209	0,131	0,082	0,053
	%	24,8	23,5	17,5	12,2	8,00	5,27	3,31	2,07	1,33
35,2	DSB/p/μm	0,963	0,841	0,603	0,391	0,212	0,145	0,090	0,053	0,029
	%	28,4	24,8	17,8	11,5	7,14	4,28	2,64	1,55	0,87
26,9	DSB/p/μm	0,774	0,629	0,410	0,249	0,144	0,080	0,045	0,024	0,014
	%	32,5	26,4	17,2	11,5	7,14	4,28	2,64	1,55	0,87
16,9	DSB/p/μm	0,473	0,331	0,192	0,109	0,054	0,029	0,014	0,007	0,003
	%	38,9	27,2	15,8	8,95	4,43	2,36	1,18	0,58	0,28
8,3	DSB/p/μm	0,205	0,129	0,067	0,034	0,019	0,009	0,004	0,003	0,001
	%	43,6	27,4	14,3	7,16	3,95	1,85	0,91	0,55	0,23
4,8	DSB/p/μm	0,103	0,060	0,031	0,016	0,009	0,004	0,002	0,001	4.10 ⁻⁴
	%	45,2	26,4	13,5	7,14	4,00	1,97	0,85	0,52	0,18
2,7	DSB/p/μm	0,048	0,027	0,015	0,008	0,004	0,002	5.10 ⁻⁴	2.10 ⁻⁴	6.10 ⁻⁴
	%	45,9	25,7	14,2	7,55	3,75	1,51	0,45	0,22	0,56
1,3	DSB/p/μm	0,017	0,009	0,004	0,002	0,001	6.10 ⁻⁴	3.10 ⁻⁴	2.10 ⁻⁴	6.10 ⁻⁵
	%	48,5	25,0	12,5	7,06	3,45	1,56	0,90	0,49	0,16

Tableau B-5 : DSB/p/μm et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les nucléosomes.

TEL (keV/μm)	Taille du cluster									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10
41,9	DSB/p/μm	0,936	0,840	0,598	0,409	0,235	0,160	0,099	0,028	0,036
	%	27,1	24,3	17,3	11,8	7,66	4,64	2,87	1,67	1,03
35,2	DSB/p/μm	0,856	0,720	0,500	0,319	0,192	0,117	0,064	0,036	0,022
	%	30,0	25,2	17,5	11,2	6,74	4,09	2,24	1,27	0,77
26,9	DSB/p/μm	0,713	0,531	0,340	0,200	0,108	0,062	0,031	0,017	0,009
	%	35,3	26,3	16,8	9,90	5,37	3,05	1,54	0,84	0,44
16,9	DSB/p/μm	0,416	0,288	0,162	0,081	0,044	0,022	0,011	0,006	0,002
	%	40,2	27,8	15,6	7,9	4,27	2,17	1,03	0,51	0,24
8,3	DSB/p/μm	0,182	0,110	0,058	0,027	0,015	0,008	0,003	0,002	$6 \cdot 10^{-4}$
	%	44,7	27,1	14,2	6,70	3,74	1,96	0,82	0,51	0,16
4,8	DSB/p/μm	0,088	0,054	0,029	0,013	0,006	0,004	0,001	$5 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$
	%	45,1	27,5	14,6	6,69	3,22	1,90	0,54	0,27	0,1
2,7	DSB/p/μm	0,040	0,024	0,011	0,006	0,003	0,001	0,001	$2 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$
	%	46,8	27,1	13,0	6,71	3,39	1,22	1,22	0,27	0,34
1,3	DSB/p/μm	0,013	0,007	0,004	0,002	0,001	$4 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	$9 \cdot 10^{-5}$	-
	%	45,6	26,6	13,8	7,00	3,71	1,59	1,17	0,32	-

B.2.2- Complexité des SSB

Le tableau B-6 concerne le territoire chromosomique contenant les fibres de chromatine et le tableau B-7 concerne le territoire chromosomique contenant les nucléosomes placés de manière aléatoire.

Tableau B-6 : SSB/p/μm et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les fibres de chromatine.

TEL (keV/μm)	Taille du cluster							
		2	3	4	5	6	7	8
41,9	SSB/p/μm	2,35	1,00	0,426	0,188	0,077	0,038	0,015
	%	57,2	24,4	10,3	5,57	1,86	0,93	0,37
35,2	SSB/p/μm	2,28	0,880	0,360	0,153	0,064	0,029	0,013
	%	60,2	23,3	9,50	4,03	1,70	0,76	0,33
26,9	SSB/p/μm	1,90	0,683	0,261	0,099	0,038	0,016	0,007
	%	63,1	22,7	8,70	3,31	1,16	0,54	0,23
16,9	SSB/p/μm	1,22	0,390	0,132	0,048	0,018	0,006	0,002
	%	67,1	21,4	7,27	2,64	1,01	0,34	0,13
8,3	SSB/p/μm	0,584	0,166	0,053	0,018	0,006	0,003	$6 \cdot 10^{-4}$
	%	70,3	20,0	6,34	2,17	0,76	0,30	0,07
4,8	SSB/p/μm	0,294	0,081	0,026	0,010	0,003	0,001	$4 \cdot 10^{-4}$
	%	70,8	19,4	6,28	2,39	0,61	0,28	0,10
2,7	SSB/p/μm	0,145	0,040	0,012	0,004	0,002	$4 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-4}$
	%	71,3	16,6	5,98	1,82	0,78	0,17	0,29
1,3	SSB/p/μm	0,052	0,013	0,004	0,002	$5 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
	%	71,8	18,3	6,01	2,41	0,41	0,53	0,20

Tableau B-7 : SSB/p/μm et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des protons dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les nucléosomes.

TEL \ Taille du cluster (keV/μm)		2	3	4	5	6	7	8
41,9	SSB/p/μm	2,50	1,03	0,446	0,203	0,090	0,042	0,020
	%	57,5	23,7	10,3	4,68	2,06	0,96	0,45
35,2	SSB/p/μm	2,28	0,897	0,363	0,156	0,069	0,031	0,012
	%	59,8	23,5	9,50	4,09	1,81	0,81	0,31
26,9	SSB/p/μm	1,88	0,679	0,263	0,103	0,041	0,016	0,006
	%	62,9	22,7	8,78	3,44	1,36	0,53	0,21
16,9	SSB/p/μm	1,22	0,376	0,134	0,044	0,017	0,006	0,003
	%	67,8	20,9	7,43	2,43	0,95	0,34	0,15
8,3	SSB/p/μm	0,522	0,142	0,048	0,016	0,006	0,002	0,001
	%	65,5	17,9	6,03	2,00	0,79	0,27	0,12
4,8	SSB/p/μm	0,283	0,074	0,025	0,008	0,002	8.10 ⁻⁴	3.10 ⁻⁴
	%	71,9	18,8	6,44	2,00	0,58	0,19	0,08
2,7	SSB/p/μm	0,140	0,037	0,011	0,004	0,002	8.10 ⁻⁴	1.10 ⁻⁴
	%	71,9	19,0	5,86	1,96	0,82	0,39	0,06
1,3	SSB/p/μm	0,046	0,011	0,004	0,001	4.10 ⁻⁴	9.10 ⁻⁵	1.10 ⁻⁴
	%	73,5	17,8	5,66	2,06	0,65	0,14	0,23

B.3- Influence de la décondensation de la chromatine suite aux simulations alphas

Cette section reporte les résultats concernant les simulations alphas réalisées dans les territoires chromosomiques de l'endothélium et du fibroblaste. Ces résultats concernent la quantification et la complexité des différents types de dommages.

Les mêmes conclusions que pour les simulations protons présentées dans la section IV.5 du dernier chapitre de cette thèse ont été observées. A savoir que la condensation de la chromatine augmente le nombre et la complexité des dommages et ceci autant pour les DSB que pour les SSB.

B.3.1- Quantification des dommages

Le tableau B-8 reporte les résultats de la quantification des dommages DSB tandis que le tableau B-9 reporte les résultats de la quantification des dommages SSB.

Tableau B-8 : DSB/ α / μm dans le territoire chromosomique du fibroblaste et de l'endothélium.

E (MeV)	TEL (keV/ μm)	FIBRO		ENDO	
		TC_EU	TC_HETERO	TC_EU	TC_HETERO
5	88,55	$1,358 \pm 0,015$	$1,571 \pm 0,032$	$4,668 \pm 0,203$	$5,342 \pm 0,398$
10	53,44	$0,955 \pm 0,009$	$1,176 \pm 0,019$	$3,190 \pm 0,110$	$3,755 \pm 0,202$
15	39,30	$0,694 \pm 0,005$	$0,865 \pm 0,011$	$2,259 \pm 0,060$	$2,714 \pm 0,105$
17,5	34,89	$0,613 \pm 0,005$	$0,758 \pm 0,008$	$1,976 \pm 0,045$	$2,334 \pm 0,082$
25	26,41	$0,420 \pm 0,003$	$0,524 \pm 0,005$	$1,366 \pm 0,023$	$1,574 \pm 0,039$
50	15,17	$0,191 \pm 7,10^{-4}$	$0,241 \pm 0,001$	$0,640 \pm 0,007$	$0,746 \pm 0,010$

Tableau B-9 : SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$ dans le territoire chromosomique du fibroblaste.

E (MeV)	TEL (keV/ μm)	FIBRO		ENDO	
		TC_EU	TC_HETERO	TC_EU	TC_HETERO
5	88,55	5,69 \pm 0,18	5,61 \pm 0,37	18,4 \pm 1,97	17,8 \pm 3,45
10	53,44	4,61 \pm 0,14	4,68 \pm 0,25	14,9 \pm 1,58	14,7 \pm 2,34
15	39,30	3,87 \pm 0,10	4,00 \pm 0,18	12,2 \pm 1,19	12,3 \pm 1,70
17,5	34,89	3,59 \pm 0,09	3,69 \pm 0,16	11,3 \pm 1,03	11,2 \pm 1,46
25	26,41	2,85 \pm 0,06	2,99 \pm 0,11	8,95 \pm 0,71	8,87 \pm 0,96
50	15,17	1,74 \pm 0,03	1,81 \pm 0,04	5,48 \pm 0,31	5,59 \pm 0,42

B.3.2- Complexité des dommages DSB

Les tableaux B-10 à B-13 reportent les résultats de la complexité des dommages DSB ainsi que la proportion de ces dommages obtenus au sein des différentes géométries implémentées.

Tableau B-10 : DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$ et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les fibres de chromatine.

TEL (keV/ μm)	Taille du cluster	2	3	4	5	6	7	8	9	10
88,55	DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,424	0,352	0,261	0,176	0,119	0,082	0,053	0,034	0,020
	%	27,0	22,5	16,7	11,2	7,61	5,22	3,37	2,17	1,29
53,44	DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,332	0,292	0,204	0,133	0,089	0,051	0,029	0,022	0,010
	%	28,2	24,7	17,3	11,3	7,53	4,32	2,49	1,83	0,84
39,30	DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,287	0,235	0,144	0,084	0,051	0,030	0,014	0,010	0,005
	%	33,0	27,1	16,5	9,68	5,81	3,44	1,65	1,13	0,57
34,89	DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,262	0,202	0,128	0,076	0,041	0,021	0,013	0,007	0,004
	%	34,4	26,6	16,8	10,0	5,44	2,80	1,68	0,88	0,48
26,41	DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,200	0,141	0,083	0,048	0,026	0,013	0,006	0,004	0,002
	%	38,5	27,2	16,0	9,18	4,95	2,42	1,19	0,70	0,38
15,17	DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,101	0,065	0,034	0,018	0,011	0,007	0,002	0,002	8.10 ⁻⁴
	%	42,0	27,2	14,0	7,53	4,42	2,92	0,90	0,90	0,33

Tableau B-11 : DSB/ α / μ m et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les nucléosomes.

Taille du TEL \ cluster (keV/ μ m)		2	3	4	5	6	7	8	9	10
88,55	DSB/ α / μ m	0,385	0,330	0,224	0,151	0,101	0,061	0,036	0,025	0,017
	%	28,3	24,3	16,5	11,1	7,43	4,48	2,65	1,83	1,22
53,44	DSB/ α / μ m	0,309	0,244	0,157	0,098	0,059	0,039	0,023	0,012	0,006
	%	32,5	25,7	16,5	10,3	3,17	4,11	2,39	1,31	0,60
39,30	DSB/ α / μ m	0,244	0,180	0,118	0,071	0,038	0,019	0,011	0,006	0,004
	%	35,4	26,0	17,2	10,3	5,57	2,81	1,56	0,88	0,51
34,89	DSB/ α / μ m	0,227	0,165	0,010	0,057	0,033	0,015	0,008	0,005	0,002
	%	37,2	27,1	16,3	9,29	5,37	2,38	1,29	0,89	0,36
26,41	DSB/ α / μ m	0,165	0,111	0,068	0,036	0,020	0,010	0,005	0,002	$8 \cdot 10^{-4}$
	%	39,4	26,6	16,1	8,59	7,74	2,47	1,20	0,43	0,19
15,17	DSB/ α / μ m	0,084	0,051	0,026	0,013	0,009	0,003	0,002	$7 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$
	%	44,3	27,0	13,7	6,91	4,60	1,82	1,16	0,37	0,12

Tableau B-12 : DSB/ α / μ m et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les fibres de chromatine.

Taille du TEL \ cluster (keV/ μ m)		2	3	4	5	6	7	8	9	10
88,55	DSB/ α / μ m	1,33	1,17	0,865	0,630	0,428	0,292	0,202	0,132	0,093
	%	24,9	21,9	16,2	11,8	8,01	5,47	3,77	2,48	1,74
53,44	DSB/ α / μ m	1,06	0,924	0,663	0,428	0,275	0,170	0,100	0,054	0,036
	%	28,2	24,7	17,7	1,4	7,32	4,53	2,67	1,45	0,95
39,30	DSB/ α / μ m	0,886	0,714	0,463	0,285	0,166	0,092	0,045	0,027	0,016
	%	32,7	26,3	17,1	10,5	6,14	3,41	1,68	1,01	0,61
34,89	DSB/ α / μ m	0,808	0,621	0,401	0,227	0,124	0,075	0,037	0,020	0,010
	%	34,7	26,6	17,2	9,75	5,31	3,21	1,61	0,85	0,45
26,41	DSB/ α / μ m	0,589	0,430	0,257	0,138	0,077	0,040	0,023	0,010	0,004
	%	37,5	27,4	16,3	8,77	4,88	2,54	1,47	0,61	0,25
15,17	DSB/ α / μ m	0,321	0,206	0,108	0,055	0,031	0,013	0,007	0,004	0,002
	%	42,8	27,4	14,4	7,27	4,09	1,69	0,93	0,56	0,24

Tableau B-13 : DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$ et leurs proportion en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les nucléosomes.

TEL (keV/ μm)	Taille du cluster									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10
88,55	DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	1,265	1,064	0,775	0,518	0,358	0,230	0,153	0,098	0,067
	%	27,1	22,8	16,6	11,1	7,67	4,92	3,28	2,10	1,45
53,44	DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,952	0,793	0,557	0,363	0,213	0,128	0,75	0,047	0,028
	%	29,9	24,9	17,5	11,4	6,67	4,01	2,35	1,46	0,87
39,30	DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,765	0,608	0,386	0,221	0,127	0,068	0,041	0,018	0,013
	%	33,9	26,9	17,1	9,79	5,64	3,02	1,79	0,81	0,58
34,89	DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,711	0,525	0,326	0,191	0,405	0,058	0,028	0,016	0,008
	%	35,9	26,5	16,5	9,66	5,32	2,90	1,41	0,78	0,38
26,41	DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,543	0,372	0,220	0,117	0,057	0,029	0,013	0,009	0,004
	%	39,7	27,3	16,1	8,53	4,41	2,11	0,92	0,63	0,28
15,17	DSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,286	0,177	0,087	0,043	0,025	0,011	0,006	0,002	0,001
	%	44,7	27,7	13,6	6,71	3,95	1,69	0,94	0,39	0,18

B.3.3- Complexité des dommages SSB

Tableau B-14 : SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$ et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les fibres de chromatine.

TEL (keV/ μm)	Taille du cluster							
		2	3	4	5	6	7	8
88,55	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	1,03	0,395	0,171	0,078	0,031	0,017	0,009
	%	59,2	22,8	9,85	4,52	1,77	1,01	0,50
53,44	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,874	0,336	0,139	0,054	0,025	0,010	0,004
	%	60,5	23,2	9,62	3,71	1,71	0,72	0,30
39,30	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,735	0,265	0,096	0,036	0,018	0,006	0,003
	%	63,3	22,9	8,27	3,14	1,51	0,54	0,22
34,89	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,678	0,227	0,085	0,032	0,013	0,006	0,002
	%	64,9	21,8	8,16	3,07	1,26	0,57	0,18
26,41	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,510	0,163	0,058	0,021	0,008	0,003	$9 \cdot 10^{-4}$
	%	66,8	21,4	7,59	2,72	0,99	0,39	0,11
15,17	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,266	0,077	0,025	0,010	0,003	0,001	$4 \cdot 10^{-4}$
	%	69,5	20,2	6,65	2,49	0,27	0,12	0,06

Tableau B-15 : SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$ et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique du fibroblaste contenant les nucléosomes.

Taille du TEL cluster (keV/ μm)		2	3	4	5	6	7	8
88,55	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	1,034	0,412	0,175	0,080	0,033	0,018	0,010
	%	58,4	23,3	9,85	4,53	1,86	1,02	0,55
53,44	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,854	0,336	0,136	0,057	0,025	0,012	0,004
	%	59,8	23,6	9,53	3,98	1,76	0,83	0,28
39,30	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,705	0,252	0,101	0,037	0,013	0,007	0,003
	%	63,0	22,5	9,02	3,28	1,18	0,60	0,25
34,89	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,644	0,228	0,082	0,030	0,012	0,004	0,001
	%	64,2	22,8	8,21	2,98	1,18	0,39	0,12
26,41	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,490	0,164	0,055	0,021	0,008	0,002	0,001
	%	66,1	22,0	7,42	2,89	1,05	0,33	0,14
15,17	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,263	0,075	0,022	0,008	0,003	0,001	$3 \cdot 10^{-4}$
	%	70,5	20,1	6,04	2,20	0,68	0,34	0,08

Tableau B-16 : SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$ et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les fibres de chromatine.

Taille du TEL cluster (keV/ μm)		2	3	4	5	6	7	8
88,55	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	3,24	1,31	0,564	0,254	0,118	0,058	0,030
	%	57,9	23,4	10,1	4,54	2,11	1,04	0,53
53,44	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	2,76	1,05	0,442	0,178	0,080	0,033	0,017
	%	60,3	23,0	9,67	3,90	1,75	0,73	0,37
39,30	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	2,30	0,812	0,319	0,122	0,048	0,019	0,007
	%	63,3	22,4	8,78	3,35	1,31	0,53	0,19
34,89	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	2,01	0,699	0,261	0,106	0,036	0,015	0,007
	%	64,1	22,3	8,32	3,37	1,14	0,47	0,22
26,41	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	1,55	0,494	0,172	0,067	0,025	0,010	0,003
	%	66,8	21,3	7,41	2,88	1,08	0,43	0,12
15,17	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,854	0,236	0,079	0,028	0,011	0,003	$2 \cdot 10^{-4}$
	%	70,5	19,5	6,48	2,33	0,84	0,27	0,02

Tableau B-17 : SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$ et leurs proportions en fonction de la taille des clusters et du TEL des alphas dans le territoire chromosomique de l'endothélium contenant les nucléosomes (ENDO TC_N).

TEL \ Taille du cluster (keV/ μm)		2	3	4	5	6	7	8
88,55	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	3,36	1,35	0,581	0,274	0,130	0,062	0,032
	%	57,7	23,1	9,96	4,7	2,22	1,07	0,56
53,44	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	2,78	1,10	0,460	0,189	0,084	0,041	0,017
	%	59,3	23,4	9,82	4,03	1,80	0,88	0,36
39,30	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	2,28	0,814	0,314	0,123	0,051	0,021	0,008
	%	63,1	22,5	8,67	3,38	1,41	0,57	0,23
34,89	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	2,10	0,722	0,264	0,102	0,036	0,018	0,006
	%	64,5	22,2	8,13	3,13	1,11	0,55	0,19
26,41	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	1,57	0,512	0,167	0,062	0,021	0,011	0,002
	%	66,9	21,8	7,12	2,64	0,91	0,48	0,10
15,17	SSB/ $\alpha/\mu\text{m}$	0,845	0,246	0,081	0,027	0,009	0,003	0,001
	%	69,7	20,3	6,65	2,20	0,72	0,24	0,10

Liste des publications et communications

Publications

Morgane Dos Santos, Carmen Villagrasa, Isabelle Clairand, Sébastien Incerti.

Influence of the DNA density on the number of clustered damages created by protons of different energies

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 298 (2013) 47-54.

Morgane Dos Santos, Carmen Villagrasa, Isabelle Clairand, Sébastien Incerti.

Influence of the chromatin density on the number of direct clustered damages calculated for proton and alpha irradiations using a Monte Carlo code.

Accepted in Progress in Nuclear Science and Technology (2013).

Morgane Dos Santos, I. Clairand, G. Gruel, J. F. Barquinero, S. Incerti, C. Villagrasa.

Influence of chromatin condensation in the number of direct DSB damages induced by ions using a Monte Carlo code.

Submitted in Radiation Protection Dosimetry (2013).

C. Villagrasa, M. Dos Santos, D. Bianco, G. Gruel, J. F. Barquinero, I. Clairand.

RBE-LET relation ship for proton and alpha irradiations studied with a nanometric approach.

Submitted in Radiation Protection Dosimetry (2013).

Communications orales

Morgane Dos Santos, Carmen Villagrasa, Isabelle Clairand, Sébastien Incerti.

Influence of the chromatin density in the study of DNA damages from protons tracks using Monte Carlo simulations.

12th International workshop on radiation damage to DNA. June 2-7, 2012. Prague, Czech Republic.

Morgane Dos Santos, Carmen Villagrasa, Isabelle Clairand, Sébastien Incerti.

Influence of the chromatin density in two detailed geometrical target models implemented in a Monte Carlo code.

12th International Conference on Radiation Shielding, September 2-7, 2012. Nara, Japan.

Morgane Dos Santos, Carmen Villagrasa, Isabelle Clairand, Sébastien Incerti.

Influence de la densité d'ADN sur le nombre de dommages radio-induits par des ions au sein de deux modèles géométriques détaillés de noyaux cellulaires.

Journées des L.A.R.D, 11-12 octobre 2012. Clermont-Ferrand, France.

Morgane Dos Santos, Carmen Villagrasa, Isabelle Clairand, Sébastien Incerti.

Modélisation de la topologie des dépôts d'énergie créés par un rayonnement ionisant à l'échelle nanométrique dans les noyaux cellulaires et relation avec les événements précoces radio-induits.

Journées des thèses IRSN, 2-5 octobre 2012. Le Croisic, France.

Morgane Dos Santos, Carmen Villagrasa, Isabelle Clairand, Sébastien Incerti.

Modélisation de la topologie des dépôts d'énergie créés par un rayonnement ionisant à l'échelle nanométrique dans les noyaux cellulaires et relation avec les événements précoces radio-induits.

Journée de l'école doctorale, 12 mars 2012. Bordeaux, France.

Posters

M. Dos Santos, C. Villagrasa, S. Incerti, G. Gruel, J. F. Barquinero, I. Clairand.

Influence of the chromatin structure (EU/HETERO) in the number and complexity of radio-induced direct cluster damages calculated by Monte Carlo simulations.

NEUDOS12. June 3-6, 2013. Aix-en-Provence, France.

Morgane Dos Santos, Carmen Villagrasa, Isabelle Clairand.

Analysis of double and simple strand breaks induced by protons within a detailed geometrical target model using a Monte Carlo toolkit.

Radiation damage of biomolecular systems: Nano-scale insights into Ion Beam Cancer Therapy. October 2-6, 2011. Caen, France.

Morgane Dos Santos, Carmen Villagrasa, Isabelle Clairand.

DNA double strand breaks versus simple strand breaks rates calculated within a detailed DNA geometrical target model.

International Congress of Radiation Research. August 28- September 1, 2011. Warsaw, Poland.

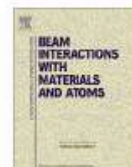
Articles scientifiques

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 298 (2013) 47–54



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B

journal homepage: www.elsevier.com/locate/nimb

Influence of the DNA density on the number of clustered damages created by protons of different energies

Morgane Dos Santos ^{a,*}, Carmen Villagrasa ^{a,1}, Isabelle Clairand ^{a,1}, Sébastien Incerti ^{b,1}^aIRSN, Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire, BP17, 92962 Fontenay-aux-Roses, France^bUniversité Bordeaux 1, CNRS/IN2P3, Centre d'Etudes Nucléaires de Bordeaux Gradignan, CENBG, Chemin du Solarium, BP120, 33175 Gradignan, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 July 2012

Received in revised form 26 October 2012

Available online 20 January 2013

Keywords:

DNA geometry

Track structure

Clustered damages

ABSTRACT

The purpose of this work is to evaluate the influence of the chromatin density in the number of clustered damages created by protons in different types of cell nuclei. For this, two detailed geometrical target models representing a fibroblast and an endothelium cell nucleus in the G0/G1 phase were implemented as the target of proton irradiations in a Monte Carlo simulation code based on the GEANT4 toolkit. The DBSCAN clustering algorithm was then used in order to determine clustered damages that could be potential simple or double strand breaks on the DNA. The influence of the DNA density has been studied by comparing the results on the relative quantification of these clustered damages. Our results show that the quantity and the complexity of clustered damages increase with increasing DNA density and thus they can depend on the cell line.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

To date, there is evidence that DNA is a privileged target for cell inactivation caused by ionizing radiation [1,2]. The energy deposited on DNA produces critical damages such as base damages or strand breaks (simple or double). Among these damages, DNA double strand breaks (DSB) are considered to be the most critical types of lesion as they can lead to loss of genetic information, due to an improper repair, and induce chromosomal aberrations or cell death [3].

For several decades, many studies have been dedicated to quantify and visualize this type of lesions. Experimental measurements of DSB by PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) in skin fibroblast or Chinese hamster V79-4 cells have shown a linear increase in the number of DSB with increasing dose [4,5]. Moreover, other studies have also reported that the DNA damage complexity depends on the LET of ionizing radiation: high LET particle irradiations should produce more complex lesions, hardly repaired, than those from low LET radiations [6,7].

On the other hand, several studies have been dedicated to the investigation of the DSB induction, repair and misrepair in heterochromatin and euchromatin regions [8,9]. These studies highlight the role of the high order chromatin structure on DSB movement [8] and the relocation of damages from the initial induction site

to the periphery of the heterochromatin leading to a local decondensation of the heterochromatin [9]. Nevertheless, the influence of the cellular type linked to the size and the shape of the cell nucleus has not been studied yet. Indeed, the same quantity of DNA is contained in different human cellular type but, depending on the nucleus size, the DNA is more or less compact and can influence the number and the complexity of damage created on the DNA.

Understand and predict this type of biological effects remains a challenge in radiobiology research. The determination of a correlation between initial radiation tracks and late cellular effects requires a detailed description of the early DNA damages caused by the energy deposition. Due to the stochastic nature of radiation tracks, Monte Carlo calculations are a well suited method to accurately simulate the energy deposited by ionizing radiation in very small biological structures as DNA (nanometric scale). In ionizing radiation interactions, the secondary electrons produced are mainly responsible for the energy deposition on the DNA. A detailed description of their transport is then necessary in order to achieve the detailed nanometric description of the track structure allowing the research of correlations with the early biological effects. In this work, we used the Geant4 general purpose Monte Carlo toolkit (version 9.5) [10,11], including the very low energy electromagnetic extension that allows the transportation of electrons down to their thermalization in liquid water.

The aim of this work being to evaluate the influence of the DNA density on the number of clustered damages created by proton irradiations in different types of human cells, two detailed geometrical target models have been implemented in a Monte Carlo

* Corresponding author. Address: 31 Avenue de la division Leclerc, 92260 Fontenay-aux-Roses, France. Tel.: +33 (0) 1 58 35 97 12; fax: +33 (0) 1 47 46 97 77.

E-mail address: morgane.dos-santos@irsn.fr (M. Dos Santos).

¹ These authors are members of the GEANT4-DNA collaboration.

simulation code, describing respectively a fibroblast and an endothelium cell nucleus. The main difference between these two types of cell nuclei is their volume: $732 \mu\text{m}^3$ for the fibroblast and $219 \mu\text{m}^3$ for the endothelium. Both models were implemented representing the cell in the G0/G1 phase because during this specific stage of the cell cycle, the density of DNA is constant, unlike other phases of the cell cycle where DNA density varies within the chromosome territories. The choice of implementing the cells in this part of the cycle allows the comparison of the simulated results on clustered damages with the experimental data on the number of DSB detected by an immunofluorescence technique. Indeed, the results presented in this work are part of a larger research project at the IRSN trying to reveal correlations between a detailed description of the energy deposited by different irradiation qualities and the number of DSB detected by γ -H2AX immunofluorescence in a larger cell population. To this end, and in order to reach a correct value of the number of radio-induced foci, cells must be irradiated in this phase of their cycle. As the quantity and the condensation state of the DNA in the two cell nuclei is the same, the two geometrical models differ in the volume occupied by the DNA with respect to the total cell nuclei volume.

These two geometrical targets are implemented in the Monte Carlo simulation of the physical interactions between the ionizing radiation and the medium, allowing the selection of the energy transfer points located within the sugar phosphate group. Then, the use of a clustering algorithm reveals clusters that could be potential simple or double strand breaks produced by these direct energy deposits on DNA. As previously indicated, the aim of these first results is to study the influence of the DNA density in the resulting energy deposited clusters. As it will be precise hereafter, our simulation code does only allow the calculation of the physical interactions between the ionizing radiation and the cell nucleus and does not take into account the radical creation and their transport, at the origin of indirect effects on DNA. Therefore, the objective of this work is not to calculate an absolute number of DSB or simple strand breaks (SSB) but to calculate a relative quantification on the number of direct complex damages, for proton irradiations, depending on the DNA density within the cell nuclei, and thus on the cell type.

2. Material and methods

2.1. The Monte Carlo code

Geant4 has been recently extended (Geant4-DNA, [12–17]) to handle micro and nanodosimetry applications by the inclusion of new physical processes that allow a detailed description of all electron interactions down to thermalization in liquid water (main component of biological systems and good approximation for the average energy absorption). The use of these processes enables the simulation of electron, proton and helium physical interactions in liquid water at the nanometric scale for sub-cellular studies.

Specific processes and model classes were introduced in Geant4-DNA in order to take into account all physical processes leading to energy deposition or non-negligible direction changes in the track structure of electrons, protons and alpha particles (and their different charge states) interacting with liquid water. Thereby, different models can be chosen to simulate inelastic collisions (ionizations and excitations), charge transfer and elastic scattering (for electrons). This Geant4 Monte Carlo toolkit with the Geant4-DNA extension is then capable to transport protons between 1 keV and 100 MeV, alpha particles between 10 keV and 400 MeV and electrons between 0.025 eV and 1 MeV.

Damage induction caused by relatively small energy deposits, below 5 eV, is still an open question [18]. Therefore, for the results

presented in this work, only ionizations and excitations were taken into account for the direct clustered damages calculations (energy deposition >8 eV, the lowest excitation level of the liquid water molecule). Nevertheless, all the secondary electrons created by the primary particles can be tracked down to thermalization using the Geant4-DNA processes (attachment and vibrational excitation). The final position of the solvated electrons can then be determined allowing the future simulation of the physico-chemical and chemical stages. Indeed, Geant4-DNA is currently being extended for the simulation of chemistry processes [19] including Brownian motion and chemicals reaction between molecules following water radiolysis.

2.2. The geometry of the target

2.2.1. State of the art

For the last three decades, several models of DNA geometry, increasingly elaborated, have been implemented as biological targets for different Monte Carlo codes dedicated to radiobiology studies. The first DNA models were represented by cylinders or spheres without any inner structure [20], then these structures were divided in several parts representing the DNA bases and the backbone region [21]. Thereafter, more sophisticated models have been implemented such as the models of Michalik and Begusova [22], Nikjoo and Girard [23], Friedland et al. [24–26] or Bernal and Liendo [27].

Michalik and Begusova [22] implemented in the TRION Monte Carlo code a detailed model of a nucleosome with a cylindrical histone (6.52 nm in diameter and 5.7 nm in length) wrapped by a tub representing the DNA double helix, of 2.4 nm in diameter and a total length of 200 bp (166 bp forming two turns with a pitch of 2.7 nm around the histone and the remaining 34 bp forming two DNA linkers).

The two geometrical models defined by Nikjoo and Girard [23] and Friedland et al. [24–26] were coded as an independent module that is superposed to the output results of the Monte Carlo codes (PHITS and KURBUC by Nikjoo and Girard [23] and PARTRAC by Friedland et al. [24–26]). These codes allow the calculation of the physical tracks as well as the physico-chemical and chemical stages needed for the evaluation of the indirect effects. Therefore, the results obtained with these codes in an homogenous medium and then superposed on the geometrical models allow the calculation of an absolute number of DNA damages. These two models represent the complete genome of a cell nucleus, containing roughly six Giga base pairs (6 Gbp) and divided into different compaction levels: B-DNA double helix, nucleosomes, chromatin fiber loops and chromosomes territories.

Concerning the model implemented by Nikjoo and Girard [23], a canonical B-DNA was used to construct the nucleosomes and a 30 nm solenoid for chromatin fibers. This type of fiber was then used to form loops of factories in chromosomes domains. Finally, the total human genome was placed in a sphere of 10 μm in diameter representing the cell nucleus.

The geometrical models [24–26] developed by Friedland et al. represent the whole genome of a fibroblast cell nucleus with a cylindrical shape of 20 μm in diameter and 5 μm in thickness and a lymphocyte with a spherical shape of 10 μm implemented in the G0/G1 phase. The DNA double helix was detailed up to the atomistic level and the chromatin fiber was described by a flexible arrangement of nucleosomes within a 30 nm solenoid or zig-zag form. From these elements, chromatin fiber loops were implemented. Each loop was composed of 100 kbp formed by 18 basic elements on a grid of 50 nm spacing [26]. The main advantage of this geometry being the association of this type of elements to form an unbroken sequence of DNA that allows the calculation of DNA fragments. In a previous version of the geometry [24], the

chromatin fiber loops were representing by rhomb forms and seven rhombs were assembled to form a rosette-like structure of 0.5 Mbp. As it will be presented in detail in Section 2.2.2 of the present work, the same type of rosette-like structure is used to define our chromatin fiber loops. Indeed, the geometrical target models presented in this work are implemented as defined volumes where the Monte Carlo track simulation takes place. In order to deal with the computing constraints deriving from this implementation, a target structure easily replicable is needed. The rosette-like structure proposed by PARTRAC allows indeed constructing a parameterizable DNA structure.

The model developed by Bernal and Liendo was first implemented in the PENELOPE Monte Carlo code [27,28] in order to evaluate its capacities for microdosimetry calculations. Then it was adapted and used in Geant4, version 9.3.P01, for calculating the total direct DNA strand break yields from Geant4-DNA track structure simulations [29]. In this model, 900 fragments of 30 nm chromatin fiber were arranged into a cylindrical shell with a central diameter of 10 μm and a height of 5.25 μm defining a region of interest for the Monte Carlo simulation. For each chromatin fiber, 500 nucleosomes were defined containing a histone region and a DNA loop with a surrounding backbone region. Although this geometry was detailed enough for direct damage calculations, only a few chromatin fibers were implemented in the code and not the complete DNA cell content.

In the present work, the description of the total genome contained in the cell nucleus is needed. This is the reason why we implemented a new model for describing the complete DNA content in the G0/G1 phase for two different cell nuclei (both ellipsoids) using geometrical parameters and shapes already described. Indeed, as in [23–26], the complete DNA structure is divided in five compaction levels in order to evaluate the direct DNA clustered damages induced by ionizing radiation. It is important to recall here that this geometrical description is used to determine volumes corresponding to the different DNA components. Nevertheless, in terms of material composition, all the volumes are filled with liquid water as this is the only material for which the physical interaction cross section are available in the Monte Carlo simulation code.

2.2.2. New geometrical target models implemented in the Geant4 Monte Carlo simulation

Each cell nucleus has been represented by an ellipsoid, containing 6.10^9 bp and divided in five organization levels: DNA double

helix (containing the amino bases and the backbone region), nucleosomes, chromatin fibers, chromatin fiber loops and chromosome territories. The geometrical shape and size of each type of cell nucleus was the result of an extensive analysis of the morphology of a large number of cells carried out by the radiobiologists of the IRSN. Therefore an ellipsoid of half-axes 9.85, 7.1 and 2.5 μm was determined for the fibroblast ($V = 732 \mu\text{m}^3$) and half-axes 9.55, 5.5 and 1 μm for the endothelium cell nucleus ($V = 219 \mu\text{m}^3$). The DNA density being constant on the G0/G1 phase within the chromosome territories, their size has been taken proportional to the DNA content. Therefore, we can evaluate the relative volume occupied by the DNA in each cell nucleus by calculating the ratio between the total volume of the DNA (backbone region and bases volumes) and the total volume of the nucleus. We estimate that the relative volume occupied by DNA is 0.42% for the fibroblast nucleus and 1.43% for the endothelium nucleus. The DNA is thus more compacted in the endothelium than in the fibroblast.

The basic element in our geometrical model is a nucleosome formed by an histone protein core wrapped by two turns of DNA double helix. The histone protein is represented by a small cylinder having a radius of 3.25 nm and a height of 5.7 nm [22]. The DNA double helix is composed of two strands containing 200 bases each. The DNA bases are represented by spheres of 0.34 nm diameters associated to a sugar phosphate group. Finally, the obtained DNA double helix has a diameter of 2.16 nm. This basic element is then used to form chromatin fibers. Each chromatin fiber is composed of 90 nucleosomes placed on an helix (7 nucleosomes/turn, 5.6 nucleosomes per 10 nm fiber length [30]) of 31 nm in diameter and 161 nm in length as shown in Fig. 1.

This basic element of chromatin fiber is then used to form the next level in DNA organization: four pieces of chromatin fiber are assembled in a diamond shape loop, as it is shown in Fig. 2. Each loop is composed of 360 nucleosomes that correspond to 72 kbp. This type of loops was used to fill chromosome territories in the case of the endothelial cell nucleus. For the fibroblast cell nucleus, a second level of chromatin fiber loop was used inspired from the rosette-like structured defined by Friedland et al. [25]. Seven loops were used to form a basic shape similar that we call “flower” (illustrated in Fig. 2). Each “flower” is composed of 28 pieces of chromatin fiber meaning 2520 nucleosomes that correspond to 504,000 bp.

The loop and the “flower” described above are the basic elements used to form the chromosome territories in the two types of cell nuclei.

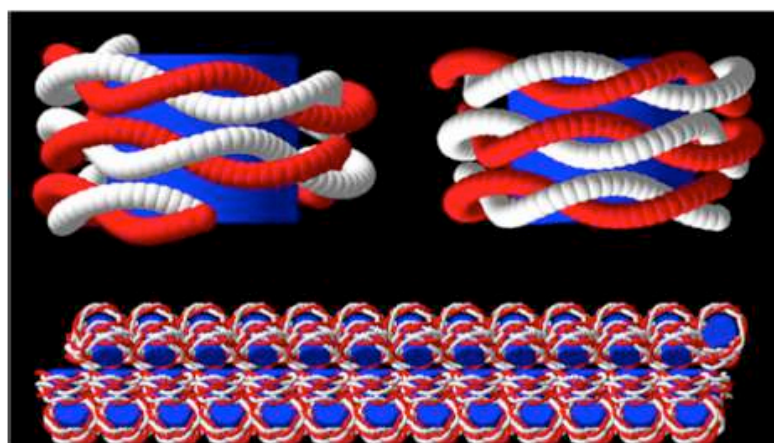


Fig. 1. Lowest organization levels in the cell nucleus geometrical target implemented for the Monte Carlo simulation; upper part: nucleosome (histone protein core + DNA double helix containing backbone and amino bases) lower part: chromatin fiber formed with nucleosomes as basic element.

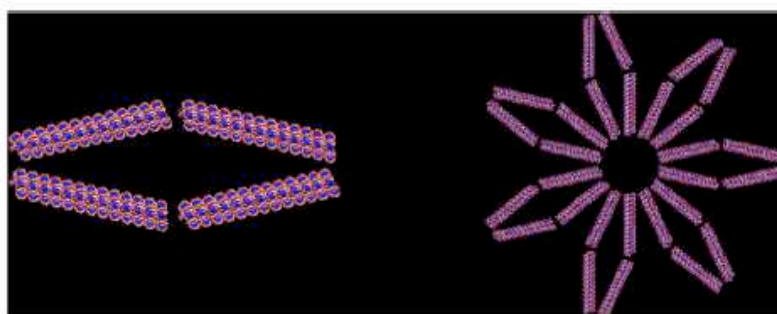


Fig. 2. Chromatin fiber loop and "flower" used to form chromosome territories.

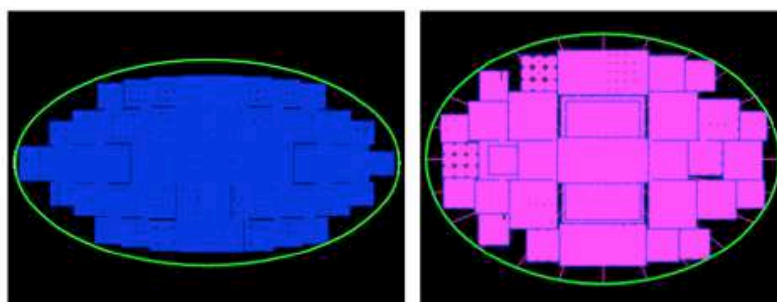


Fig. 3. Projection along the z axis of the chromosome territories of an endothelium (left) and a fibroblast (right) cell nucleus models implemented in the Geant4 code.

As discussed above, each ellipsoid cell nucleus is divided in 46 cubic territories having a volume proportional to the number of base pairs contained in it (Fig. 3). The territories were defined and filled uniformly with the number of loops or flowers needed to obtain the right number of base pairs per chromosome.

In the end, these cell nuclei are composed of 46 chromosomes, 83,125 loops for endothelial nucleus or 11,875 flowers for fibroblast nucleus, 332,500 pieces of chromatin fiber, 29,925,000 nucleosomes leading to roughly 6 Gbp.

2.3. Simulation of proton irradiation

The proton irradiation of each cell nucleus model was simulated for different kinetic energies between 0.5 and 50 MeV. The proton beam was shot parallel to the lower axis (z), in order to reproduce the most common configuration of irradiation of nuclei in ion beam experiments (perpendicular to the cell culture). The position x and y of the initial beam was chosen randomly covering the entire cell nucleus surface. The initial z coordinate for the proton beam was chosen at the cell nuclei entrance in the center of the ellipsoid $(0, 0, z_i)$ with $z_i = -2.5 \mu\text{m}$ for the fibroblast and $z_i = -1 \mu\text{m}$ for the endothelium. The LET given in the tables below has been calculated with Geant4 from protons with kinetic energy equal to the kinetic energy at the initial position of the protons. The LET has been calculated from the energy deposited in water slices of around $1 \mu\text{m}$, thin enough so there is no important change in the incident proton energy but allowing a sufficient number of interactions for a correct determination of the energy loss. Nevertheless, only protons starting from $(0, 0, z_i)$ enter in the cell nuclei with this LET. The other protons, starting from (x, y, z_i) enter in the cell nuclei after some energy loss and thus with a slightly higher LET ($<10\%$).

The maximal thickness crossed by the proton beam is $5 \mu\text{m}$ for the fibroblast and $2 \mu\text{m}$ for the endothelium. For all the protons

energies simulated in this work, the proton beam is never stopped within the cell nuclei. In the most severe case, protons of 500 keV crossing the $5 \mu\text{m}$ width of the fibroblast cell, their range is roughly $9 \mu\text{m}$ allowing to completely cross the cell nucleus. Their kinetic energy after traversing the cell nuclei is roughly 340 keV corresponding to a LET of $52 \text{ keV}/\mu\text{m}$.

We evaluated the minimal number of tracks needed to have statistically steady results in terms of clustered damages per proton and micrometer (see next section). Finally, the minimal number of tracks depends on the proton energy as the LET changes. Therefore, for high LET protons 1500 tracks were needed while 5000 tracks were needed for low LET protons in order to obtain a statistically representative result i.e. that the number of damages per proton and micrometer does not vary more than 2%.

2.4. Cluster determination

Primary protons at different energies (from 0.5 to 50 MeV), as well as the generated secondary electrons, were transported within the described targets using the Geant4-DNA physical processes as indicated in Section 2.1. The tracks obtained were then analyzed using the DBSCAN algorithm [31]. Clustering algorithms are a powerful tool to reveal points or objects belonging to a same group and to show the links between them. Compared to other algorithms [32,33], DBSCAN is very efficient in terms of computing time and convergence to discover clusters of arbitrary shapes, basically requiring only two input parameters: the radius of the neighborhood area and the minimum number of points needed to form a cluster.

In our previous publication, Francis et al. [34] have adapted the DBSCAN algorithm aiming at calculating the absolute number (direct + indirect) of early DNA damages (DSB and SSB) from the energy transfer points calculated using the same Monte Carlo

Geant4-DNA processes. In that previous work, tracks were simulated without a detailed DNA geometry but in a homogenous volume of liquid water and only a fraction of the energy transfer events (16% randomly chosen) was selected to be used by the clustering algorithm for calculating the DNA breaks.

Regarding the present study, the DNA target models implemented in the Monte Carlo simulation allow to overcome the difficulty of determining the position in space of energy transfer events placed in the DNA sensitive volumes with respect to a potential damage of the double helix. Here, the clustering algorithm runs over all the inelastic interactions – excitations and ionizations – leading to energy deposition located on the sugar phosphate volume. From this selection, only direct damages are taken into account. The implemented geometrical models presented in this work are as well prepared to be adapted to the modeling of indirect effects as they also include geometrical volumes (not specified in the Section 2.2.2) around the DNA molecule with an appropriated size and shape to be used in the molecular species and radical creation and transport in future extensions of Geant4-DNA.

Under these conditions, the parameters used in the DBSCAN algorithm allowing the determination of clustered lesions are:

- a minimum of two points to form a cluster.
- a maximal radius of 3.2 nm that corresponds to roughly the distance separating 10 bp.
- a minimal energy of 8 eV for each energy transfer point.

No energy cut has been used in order to determine a number of strand breaks from the calculated clusters. In other works [6,23,35] the number of direct strand breaks is calculated from the energy deposition clusters exceeding 17.5 eV. In the case of the PARTRAC code [25,26] a linear probability from 5 eV up to 37.5 eV has been used as energy condition. Nevertheless, in the current state of the simulation tool used in the present work it is not possible to calculate a total number of double or simple strand breaks that can be validated with experimental biological data or other calculated values. The purpose of the present work being to evaluate the relative dependence of the radio-induced damages on DNA density, the choice has been made to calculate all the possible clustered damages, thus the damages revealed thanks to the clustering algorithm are only potential candidates to strand breaks.

Table 1
Considered types of DNA damages.

Type of DNA damages	Definition	Representation of DNA damages	Abbreviation
Isolated interaction points	Interaction points located at more than 3.2 nm of any other point (no cluster revealed)		SSB candidates (SSB _{cand})
Simple cluster	Interaction points located on the same strand and separated by less than 3.2 nm		
Complex cluster	Interaction points where at least one of them is located on a different strand and separated by less than 3.2 nm		DSB candidates (DSB _{cand})

Table 2
Evolution of the total number of DSB_{cand} per proton and micrometer.

E (MeV)	LET (keV/μm)	DSB _{cand} /p Endothelium	Statistical errors endothelium (%)	DSB _{cand} /p Fibroblast	Statistical errors Fibroblast (%)	% of difference
0.5	41.9	2.02	4	0.71	1	64.7
0.7	35.2	1.62	3	0.58	1	64.1
1	26.9	1.17	3	0.41	1	64.9
2	16.9	0.850.62	1	0.198	0.4	68.0
5	8.3	0.242	0.4	0.079	0.1	67.5
10	4.8	0.118	0.3	0.039	0.1	66.7
20	2.7	0.056	0.1	0.0175	0.04	69.0
50	1.3	0.021	0.1	0.0059	0.02	71.9

Table 1 presents a classification of the obtained clusters in three groups. First, the isolated points are energy transfer points located on the backbone volume but located more than 10 bp away from another energy transfer point. They could correspond to SSB and we therefore propose to call them SSB "candidates". The second group corresponds to simple clusters containing more than two interaction points located in the same strand and separated by less than 10 bp: in this case, the cluster could correspond to a complex SSB. The third kind of revealed clusters could refer to potential DSBs (simple or complex) as at least one of the energy transfer points is located in an opposite strand.

3. Results and discussion

As previously indicated, we present in this section the results obtained using the clustering algorithm applied to the energy transfer points located on the backbone of our two geometrical targets. The results were normalized by the average length crossed by the proton beam (1.37 μm for the endothelium and 3.56 μm for the fibroblast).

Potential candidates to double (DSB_{cand}) or simple strand breaks (SSB_{cand}) created by direct interactions of protons in both cell nuclei were calculated and compared. The Section 3.1 is dedicated to the evaluation of the total number of DSB_{cand} and SSB_{cand}, Section 3.2 to the evaluation of their ratios and Section 3.3 to the evaluation of the complexity of the DNA clustered damages.

3.1. Total number of DSB_{cand} and SSB_{cand} created in the backbone

Tables 2 and 3 report a comparison between the results obtained in the two DNA geometrical targets for the total number of DSB_{cand} and SSB_{cand} as a function of the proton energy or their LET.

The results show an increase of the total number of DSB_{cand} and SSB_{cand} with increasing radiation LET. Indeed, the increasing radiation LET increases the energy transfer point density of the tracks and consequently the probability to have energy deposited located on sensitive areas (backbone region) leading to a DNA damages increase. We can also observe that the increase of the number of

Table 3Evolution of the total number of SSB_{cand} per proton and micrometer.

E (MeV)	LET (keV/ μ m)	SSB_{cand}/p Endothelium	Statistical errors endothelium (%)	SSB_{cand}/p Fibroblast	Statistical errors Fibroblast (%)	% of difference
0.5	41.9	6.31	12	1.99	4	68.3
0.7	35.2	5.85	12	1.99	3	65.7
1	26.9	5.11	9	1.76	3	65.3
2	16.9	3.75	7	1.21	2	67.5
5	8.3	1.98	3	0.669	0.7	66.1
10	4.8	1.16	2	0.407	0.4	64.8
20	2.7	0.672	0.7	0.237	0.3	64.6
50	1.3	0.311	0.4	0.111	0.1	64.2

DSB_{cand} or SSB_{cand} is more pronounced for the protons between 0.5 and 2 MeV (41.9–16.9 keV/ μ m).

Moreover, we can note that the number of DSB_{cand} and SSB_{cand} damages found on the endothelium cell nucleus is always higher than in the case of the fibroblast cell nucleus for all energies. As the DNA density is higher on the endothelium cell nucleus and the distance between the energy transfer points depends on the radiation LET, for a same LET, the probability to interact with the backbone region is more important for the endothelium cell nucleus than for the fibroblast.

In the last column of Tables 2 and 3, we have reported the difference between cell nuclei in terms of number of DSB_{cand} and SSB_{cand} . We can observe that, for DSB_{cand} , this difference tends to increase with decreasing radiation LET. For SSB_{cand} the difference decreases with decreasing LET. In the case of DSB_{cand} , a decreasing radiation LET decreases the probability of two energy transfer points to be located close enough to produce a DSB. This decreasing probability is even more important when the DNA density decreases making more difficult the location of the energy transfer point within the backbone region. The consequence is then an increase in the number of SSB_{cand} .

3.2. Evolution of the ratio between DSB_{cand} and SSB_{cand}

Fig. 4 illustrates the ratios between DSB_{cand} and SSB_{cand} between the two geometrical targets. Ratios for the endothelium cell nucleus are represented by diamond symbols while those for the fibroblast cell nucleus are represented by square symbols.

The results obtained show an increase of the ratio with increasing radiation LET. Although we only took into account direct DNA damages, our results show a linear increase with increasing radiation as in the case of PARTRAC's studies [25] where direct and indirect DNA damages were taken into account.

We can also observe that, at low LET, ratios for the endothelium cell nucleus are higher than those for the fibroblast cell nucleus

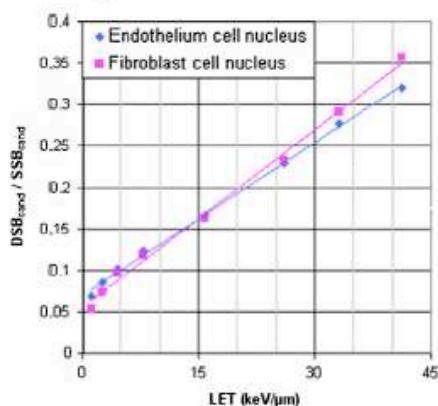


Fig. 4. Comparison of the ratio between DSB_{cand} and SSB_{cand} . Lines are guides for the eyes only.

changing the tendency for high LET. This observation can be explained by the percentage of difference between cell nuclei which increases with decreasing radiation LET for DSB_{cand} and increases for SSB_{cand} as it was mentioned in the previous section.

3.3. Complexity of DSB_{cand} clusters

The complexity of potential DSB damages, i.e. the number of interaction points composing a cluster, was studied. In this section, we have only reported the results for protons of extreme simulated LET: 41.32 keV/ μ m and 1.245 keV/ μ m, respectively (that corresponds to 0.5 and 50 MeV).

Results concerning DSB_{cand} are reported in Table 4 and Fig. 5 for high LET protons and on Table 5 and Fig. 6 for low LET protons. A similar study was made concerning the complexity of the SSB_{cand} clusters. As the conclusions are equivalent to those presented for the DSB candidates, the values have not been reported.

In Tables 4 and 5, only the results concerning the cluster size from two to eight points per cluster were reported. Clusters with higher sizes can be found but they represent less than 5% of the total produced clusters. More than 50% of the clusters are small size clusters only formed by two or three points.

Table 4Number of DSB_{cand} per proton and micrometer as a function of the cluster size for 0.5 MeV.

Cluster size	Endothelium	Statistical errors Endothelium (%)	Fibroblast	Statistical errors Fibroblast (%)
2	0.498	0.5	0.1547	0.07
3	0.467	0.6	0.1500	0.07
4	0.364	0.6	0.1225	0.08
5	0.251	0.7	0.088	0.1
6	0.165	0.9	0.065	0.1
7	0.104	1.2	0.041	0.1
8	0.067	1.5	0.028	0.2

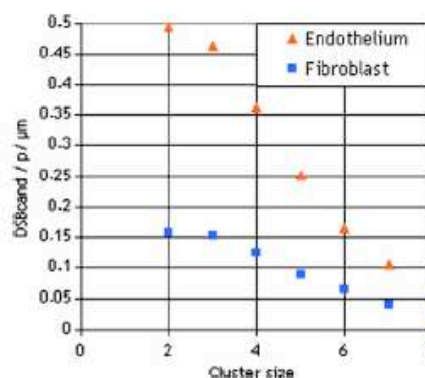


Fig. 5. Comparison of the complexity of DSB_{cand} per proton and micrometer for 0.5 MeV.

Table 5

Number of DSB_{total} per proton and micrometer as a function of the cluster size for 50 MeV.

Cluster size	Endothelium	Statistical errors Endothelium (%)	Fibroblast	Statistical errors Fibroblast (%)
2	0.0095	0.01	0.00278	0.004
3	0.0055	0.01	0.00147	0.006
4	0.0028	0.02	0.00077	0.008
5	0.0017	0.02	0.0004	0.01
6	0.00096	0.03	0.0002	0.01
7	0.00045	0.04	0.0001	0.02
8	0.00013	0.08	0.00005	0.03

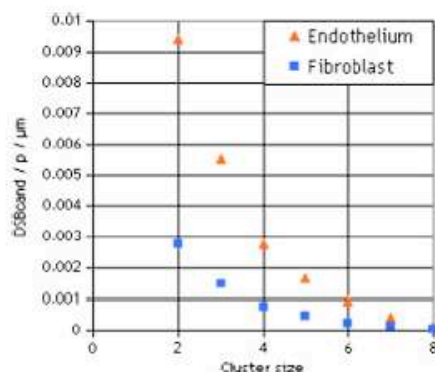


Fig. 6. Comparison of the complexity of DSB_{total} per proton and micrometer for 50 MeV.

Furthermore, for a given cluster size, the quantity of clusters increases with radiation LET due to a higher density in the number of transfer points.

Comparing the cell nuclei, the number of clusters formed of two to eight points was found to be always higher in the case of the endothelium cell nucleus. Thus, the increase of the DNA density seems to increase the probability of having complex damages.

In brief, our results show an increase of the complexity of direct DNA clustered damages with increasing radiation LET. Moreover, the increase of the DNA density in the endothelium cell nucleus contributes to the increase of the total number of complex DNA damages. These results could suggest a dependence on the cell type of the ability of radio-induced damages repair and thus on the further cell development.

4. Conclusion

This work was initiated to evaluate the influence of the chromatin density in the number of direct clustered damages induced on DNA by ionizing radiation. To this end, two geometrical target models of cell nuclei, representing a fibroblast and an endothelium cell nucleus in the G0/G1 phase, have been implemented in the Geant4 Monte Carlo code (they will be distributed in a further release of the Geant4 code). The irradiation of each nucleus with protons with several kinetic energies ranging from 0.5 to 50 MeV was simulated. We have observed that the quantity and the complexity of potential damages created in the endothelium cell nucleus are always higher than in the fibroblast. These results suggest that the DNA density related to the cell type could have an influence on the ability of the repair processes and could induce an increase of the radio-induced chromosomal aberrations or cell death.

Nevertheless, few experimental data are available in literature to assess the influence of the DNA density [8–9]. In the remainder of this work, experiments on these two types of cell nuclei will be performed for different radiations qualities (alpha, proton and X irradiations) to compare our results with experimental biological data. On the other hand, a study concerning the shape of chromatin will be performed in order to evaluate the influence of the euchromatin and heterochromatin regions.

Moreover, this study was only focused on the direct effects of ionizing radiation. The next step of this work will be to study the impact of indirect effects due to physico-chemical and chemical stages where radiolytic products, resulting from water radiolysis, can produce DNA damages. As it was reported in Section 2.1, these processes are currently under development in Geant4 [17].

Acknowledgement

The authors would like to thank Z. Francis, author of the adapted DBSCAN algorithm at the beginning of this project.

References

- [1] D.T. Goodhead, Initial events in the cellular effects of ionizing radiations: clustered damage in DNA, *Int. J. Radiat. Biol.* 65 (1994) 7–17.
- [2] P. Olive, The role of DNA single and double strand breaks in cell killing by ionizing radiation, *Radiat. Res.* 150 (1998) S42–S51.
- [3] D. Frankenberg, M. Frankenberg-Schwager, D. Blocher, R. Harbich, Evidence for DNA double strand breaks as the critical lesions yeast cells irradiated with sparsely or densely ionizing radiation under oxic or anoxic conditions, *Radiat. Res.* 88 (1981) 524–532.
- [4] S.W. Botchway, D.L. Stevens, M.A. Hill, T.J. Jenner, P. O'Neill, Induction and rejoining of DNA double strand breaks in Chinese hamster V79-4 cells irradiated with characteristics Aluminium K and copper L ultrasoft X-rays, *Radiat. Res.* 148 (1997) 317–324.
- [5] D. Frankenberg, H.J. Brede, U.J. Schrewe, C. Steinmetz, M. Frankenberg-Schwager, G. Kasten, E. Pralle, Induction of DNA double strand breaks by H and He ions in primary human skin fibroblasts in the LET range of 8–124 keV/μm, *Radiat. Res.* 151 (1999) 540–549.
- [6] H. Nikjoo, P. O'Neill, W.E. Wilson, D.T. Goodhead, Computational approach for determining the spectrum of DNA damage induced by ionizing radiation, *Radiat. Res.* 156 (2001) 577–583.
- [7] C. Leloup, G. Garty, G. Assaf, A. Cristovao, A. Breskin, R. Chechik, S. Shchemelinin, T. Paz-Elizur, Z. Livneh, R.W. Schulte, V. Bashkurov, J.R. Milligan, B. Grosswendt, Evaluation of lesion clustering in irradiated plasmid DNA, *Int. J. Radiat. Biol.* 81 (2005) 41–54.
- [8] M. Falk, E. Lukasova, S. Kozubek, Higher order chromatin structure in DSB induction, repair and misrepair, *Muta. Res.* 704 (2010) 88–100.
- [9] B. Jakob, J. Splinter, S. Conrad, K. Voss, D. Zink, M. Durante, M. Lobrich, G. Taucher-Scholz, DNA double strand breaks in heterochromatin elicit fast repair protein recruitment, histone H2AX phosphorylation and relocation to euchromatin, *Nucleic Acids Res.* 39 (2011) 6489–6499.
- [10] S. Agostinelli et al., GEANT4-a simulation toolkit, *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. A* 506 (2003) 250–303.
- [11] J. Allison et al., Geant4 developments and applications, *IEEE Trans. Nucl. Sci.* 53 (2006) 270–278.
- [12] C. Villagrasa, Z. Francis, S. Incerti, Physical models implemented in the GEANT4-DNA extension of the GEANT4 toolkit for calculating initial radiation damage at the molecular level, *Radiat. Prot. Dosim.* 143 (2011) 214–218.
- [13] S. Incerti et al., Comparison of GEANT4 very low energy cross section models with experimental data in water, *Med. Phys.* 37 (2010) 4692–4708.
- [14] Z. Francis, S. Incerti, M. Karamitros, H.N. Tran, C. Villagrasa, Stopping power and ranges of electrons, protons and alpha particles in liquid water using the GEANT4-DNA package, *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. B* 269 (2011) 2307–2311.
- [15] Z. Francis, S. Incerti, R. Capra, B. Mascialino, G. Montarou, V. Stepan, C. Villagrasa, Molecular track scale structure simulations in liquid water using the GEANT4-DNA Monte Carlo code processes, *Appl. Radiat. Isot.* 69 (2011) 220–226.
- [16] C. Champion, S. Incerti, H. Tran, Z. El Bitar, Electron and proton elastic scattering in water vapour, *Nucl. Instr. Meth. B* 273 (2012) 98–101.
- [17] V.N. Ivanchenko, S. Incerti, Z. Francis, H.N. Tran, M. Karamitros, M.A. Bernal, C. Champion, P. Guèye, Combination of electromagnetic physics processes for microdosimetry in liquid water with the Geant4 Monte Carlo simulation toolkit, *Nucl. Instr. Meth. B* 273 (2012) 95–97.
- [18] I. Baccarelli, I. Bald, F.A. Gianturco, E. Illenberger, J. Kopyra, Electron induced damage of DNA and its components: experiments and theoretical models, *Phys. Rep.* 508 (2011) 1–44.
- [19] M. Karamitros et al., Modelling radiation chemistry in the GEANT4 toolkit, *Nucl. Sci. Tech.* 2 (2011) 503–508.

- [20] D.T. Goodhead, H. Nikjoo, Track structure analysis of ultrasoft X-rays compared to high and low LET radiations, *Int. J. Radiat. Biol.* 55 (1989) 513–529.
- [21] D.E. Charlton, H. Nikjoo, J.L. Humm, Calculation of initial yields of single and double strand breaks in cell nuclei from electrons, protons and alpha particles, *Int. J. Radiat. Biol.* 56 (1989) 1–19.
- [22] V. Michalik, M. Begusova, Target model of nucleosome particle for track structure calculations and DNA damage modeling, *Int. J. Radiat. Biol.* 66 (1994) 267–277.
- [23] H. Nikjoo, P. Girard, A model of the cell nucleus for DNA damage calculations, *Int. J. Radiat. Biol.* 88 (2011) 87–97.
- [24] W. Friedland, P. Jacob, H.G. Paretzke, T. Stork, Monte Carlo simulation of the production of short DNA fragments by low linear energy transfer radiation using higher order DNA models, *Radiat. Res.* 150 (1998) 170–182.
- [25] W. Friedland, P. Jacob, P. Bernhardt, H.G. Paretzke, M. Dingfelder, Simulation of DNA damage after Proton irradiation, *Radiat. Res.* 59 (2003) 401–410.
- [26] W. Friedland, M. Dingfelder, P. Kundrat, P. Jacob, Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC, *Muta. Res.* 711 (2011) 28–40.
- [27] M.A. Bernal, J.A. Liendo, An investigation on the capabilities of the PENELOPE MC code in nanodosimetry, *Med. Phys.* 36 (2009) 620–625.
- [28] F. Salvat, X. Llovet, J.M. Fernandez-Varea, J. Sempau, Monte Carlo simulation in electron probe microanalysis. Comparison of different simulation algorithms, *Microchim. Acta* 155 (2006) 67–74.
- [29] M.A. Bernal, C.E. deAlmeida, C. Sampaio, S. Incerti, C. Champion, P. Nieminen, The invariance of the total direct DNA strand break yield, *Med. Phys.* 38 (2011) 4147–4153.
- [30] S.E. Gerchman, V. Ramakrishnan, Chromatin higher-order structure studied by neutron scattering and scanning transmission electron microscopy, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84 (1987) 7802–7806.
- [31] M. Ester, H.P. Kriegel, J. Sander, X. Xu, A density-based algorithm for discovering clusters in large spatial databases with noise, *Proceedings of the Second International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining*, AAAI Press, (1996) 226–231.
- [32] J.A. Hartigan, M.A. Wong, Algorithm AS136: a K-means clustering algorithm, *Appl. Stat.* 28 (1979) 100–108.
- [33] R.T. Ng, J. Han, Efficient and effective clustering methods for spatial data mining, in: *Proc. 20th Intl. Conf. Very Large Data, Bases*, (1994) 144–155.
- [34] Z. Francis, C. Villagrasa, I. Clairand, Simulation of DNA damage algorithm after proton irradiation using an adapted DBSCAN algorithm, *Comput. Meth. Programs Biomed.* 101 (2011) 265–670.
- [35] H. Nikjoo, P. O'Neill, D.T. Goodhead, M. Terrissol, Computational modelling of low-energy electron-induced DNA damage by early physical and chemical events, *Int. J. Radiat. Biol.* 71 (1997) 467–483.

ARTICLE

Influence of the chromatin density on the number of direct clustered damages calculated for proton and alpha irradiations using a Monte Carlo code

Morgane Dos Santos^{a,c}, Carmen Villagrasa^{a,c}, Isabelle Clairand^{a,c} and Sebastien Incerti^{b,c}

^aIRSN, Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire, BP17, 92962 Fontenay-aux-Roses; ^bUniversité de Bordeaux 1, CNRS/IN2P3, Centre d'Etudes Nucléaires de Bordeaux Gradignan, CENBG, chemin du solarium, BP 120, 33175 Gradignan, France; ^cThe authors are members of the Geant4-DNA collaboration

The aim of this work is to evaluate the influence of the DNA density on the number of direct DNA clustered damages created by protons and alphas. Some simulations of the energy deposition were performed within two detailed DNA geometrical target models implemented in the Geant4 Monte Carlo code. An adapted DBSCAN algorithm was then used in order to determine the clustered damages.

Keywords: DNA geometry; clustering; direct DNA damages; Monte Carlo simulations

1. Introduction

Understand and predict the biological effects of ionising radiation remains a challenge in radiobiology research. To date, there are evidences that DNA is the privileged target giving rise to irradiation damages to cells [1]. The energy deposited by the ionising particles produces critical DNA damages such as base damages or strand breaks, nevertheless it is generally accepted that DNA double strand breaks (DSB) are the main responsible for chromosomal aberrations and cell death [2]. Nowadays, Monte Carlo track calculations are the only method to accurately simulate the energy deposition by ionizing radiation in such small biological structures. In this work, we used the Geant4 Monte Carlo toolkit, version 9.5, to carry out the simulations [3-4].

Two detailed geometries of cell nucleus, representing a fibroblast and an endothelium, were implemented as the target of proton and alpha irradiations in order to evaluate the influence of the DNA density and the radiation qualities on the number and complexity of damages. This evaluation is based on a relative quantification of DNA clustered damages created on the implemented DNA geometries and revealed thanks to an adapted clustering algorithm.

2. Material and method

2.1. The Monte Carlo code GEANT4

Geant4 has been recently extended [5-8] to handle micro and nanodosimetry applications by the use of

physical processes called Geant4-DNA, that allow simulations with nanometric precision on the energy deposited by ionizing radiation on sub-cellular studies. Specific cross sections were introduced in the code in order to take into account all processes leading to energy deposition or non-neglected direction changes in the track of electrons, protons and alpha particles (and their different charge states) interacting with liquid water. Indeed, liquid water is commonly used to represent biological material, because it is the most abundant molecule present in biological cells. Thereby, different models can be chosen to simulate inelastic collisions (ionisations and excitations), charge transfer and elastic scattering (the later for electrons). The Monte Carlo toolkit is then suitable to transport protons between 1 keV and 100 MeV, alpha particles between 1 keV and 400 MeV and electrons between few eVs and 1 MeV.

2.2. DNA geometrical target models

The DNA target models implemented in Geant4 represent the whole genome of a human fibroblast and a human endothelium cell nucleus in the G0/G1 phase where the genome occupies the total cell nucleus volume in a rather homogeneous manner. Each nucleus is enveloped by an ellipsoid with half axis of 9.85, 7.1 and 2.5 μm for the fibroblast and 9.55, 5.5 and 1 μm for the endothelium. The nucleus volume is divided in 46 regions with a volume proportional to the chromosome's size. The main difference between these two cell nuclei is the relative volume occupied by the DNA as the genome content is the same and the total cell nucleus volume is different: the volume of the fibroblast cell nucleus is indeed three times larger than for the endothelium. The DNA molecule is then more compact

*Corresponding author. morgane.dos-santos@irsn.fr

in the endothelium cell nucleus. The relative volume occupied by DNA is then 1.43% for the endothelium nucleus and 0.42% for the fibroblast. The geometry of the total DNA molecule (about 6 Gbp) within the cell nucleus is divided in five compaction levels based on the PARTRAC geometrical model [9,10]: DNA double helix, nucleosomes, chromatin fiber, chromatin fiber loop and chromosome territories.

The basic element of the geometry is a nucleosome (Figure 1a) that is composed of a cylinder representing the histone proteins wrapped by roughly two turns of DNA double helix containing about 200 amino bases and the sugar phosphate corresponding region. From this element a solenoid chromatin fiber of 90 nucleosomes (Figure 1b) with a diameter of 31 nm is built. Four of this chromatin fibers are used to form loops, assembled in a diamond shape (Figure 1c). This "simple loop" is composed of 72 kbp and can be used to form another level of compaction used in the case of the fibroblast description with a form close to a "flower" (Figure 1d) composed of 0.5 Mbp. The "Simple loop" is used to fill the endothelium chromosome territories and the "flower" loop is used to fill the fibroblast chromosome territories. Further details about the DNA models are given in [11].

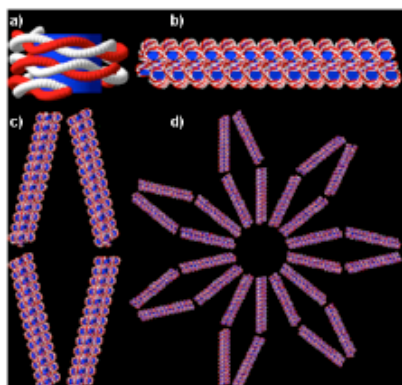


Figure 1. a: nucleosome, b: chromatin fiber, c: simple loop, d: flower.

2.3. Simulated beam

In the present work, simulations with protons between 0.5 and 50 MeV (1.245 to 41.3 keV/ μ m) and alphas between 5 and 50 MeV (15.17 to 88.55 keV/ μ m) were performed. The proton and alpha beam were simulated parallel to the lower axis of the nucleus (z), the maximal thickness crossed by the beam being 5 μ m for the fibroblast and 2 μ m for the endothelium. The position x and y was chosen randomly in order to cover the entire surface of the nucleus. The number of simulated events was calculated in order to obtain statistically steady results in term of DSB candidates per particle and per micrometer. Indeed, our results are normalized by the average length crossing. The results obtained do not vary more than 2%.

2.4. Clustering algorithm

On our previous work [12], a DBSCAN clustering algorithm allowing the calculation of the absolute number (direct + indirect) of early DNA damages (DSB and SSB) has been adapted. In that previous work, tracks were simulated in a homogeneous liquid water containment and only a fraction of the energy transfer points (16% randomly chosen) was selected to be used on the DBSCAN algorithm for calculating the DNA breaks.

In this present work, the implementation of a detailed DNA geometry, helps to make in a more realistic manner the selection of the energy transfer points suitable for producing strand breaks.

These energy transfer points are those located on the backbone region (sugar / phosphate group). All ionizations and excitations of the media located on the backbone region were thus taken into account by the clustering algorithm. The relative position of all these energy transfer points was analysed with an adapted DBSCAN clustering algorithm [12] in order to reveal clusters of energy deposition that could correspond to a simple strand break (SSB) or a DSB. This method gives also information about the complexity of the obtained clusters.

The parameters used by the clustering algorithm take into account the fact that the separation of a maximum of 3.2 nm (that corresponds to roughly the distance between 10bp) can be at the origin of a DSB if the points are located in opposite strands [11].

From these considerations, three types of resulting clusters can be distinguished and associated to a classification of possible damages that has been reported in Table 1:

Table 1. Different types of DNA clustered damages.

Type of cluster	Definition	Name
Isolated interaction points	Interaction points located more than 10 bp away from another points	SSB candidates (SSB _{cand})
Simple cluster	Interaction points located on the same strand and separated by less than 10 bp	
Complex cluster	Interaction points for which at least one of them is located on a different strand and separated by less than 10 bp	DSB candidates (DSB _{cand})

3. Results and discussion

In this section only the results concerning the potential candidates to DSB have been reported as the conclusions about the SSB candidates are equivalent.

3.1. Total DSB candidates

Figure 2 shows the evolution of the total number of DSB candidates per particle and micrometer for each

type of cell nucleus as a function of the LET of the projectile.

The conclusions concerning the influence of the DNA density are the same for alpha and proton irradiations (protons were studied in more details in our previous work [11]). The total number of DNA clustered damages increases with increasing radiation LET due to the increasing of the track density. Moreover, more damages have been found in the endothelium cell nucleus than in the fibroblast for a given LET. The DNA density in the cell nucleus being higher for the endothelium than for the fibroblast, the probability to obtain energy transfer points located on the backbone region is then higher for the endothelium cell.

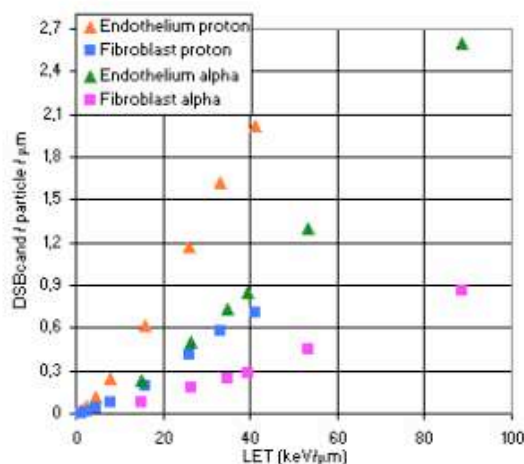


Figure 2. DSB_{cand} per particle and micrometer for each type of cell nucleus.

Concerning the influence of the radiation quality, for a given LET and a given cell nucleus, more possible damages were found after a proton irradiation than for an alpha irradiation.

Table 2 reports the difference in the number of resulting clustered damages created by protons versus alphas (in %) depending on the cell nuclei.

Table 2. Difference in the number of clustered damages between proton and alpha (DSB_{cand_α} / DSB_{cand_p} in %).

LET proton (keV/μm)	LET α (keV/μm)	% of difference in endothelium cell	% of difference in fibroblast cell
41.32	39.3	57.61	59.35
33.25	34.89	55.04	58.45
26.08	26.41	57.09	57.29
15.89	15.17	63.43	60.47

As it can be seen from this table, the difference in the number of DSB created by protons or alphas (between 55 and 63 %) seems to be independent of their LET (on this range of values) and the cell nucleus type. The probability of creating a DSB is always higher for proton irradiation than for alphas. Indeed, as the energy

communicated to secondary electrons depends on the kinetic energy of the primary particle, for a same LET, more energetic electrons are created after alpha irradiations. These electrons have lower interaction cross sections and consequently a higher mean free path leading to a more sparse energy transfer point distribution. Thus, the probability to have energy transfer points located on the backbone region close enough to give rise to DSB candidates is lower after an alpha irradiation [13].

3.2. Complexity of DSB candidates

Concerning the complexity of the potential DSB candidates revealed by the clustering algorithm, in Figure 3, we plotted the number of DSB_{cand} per alpha particle and micrometer as a function of their size for three different LET of the alpha beam.

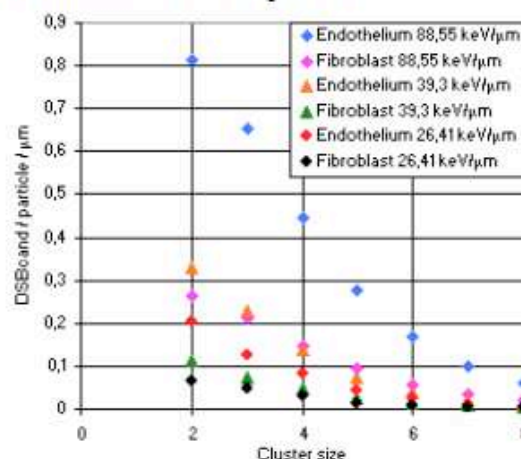


Figure 3. Complexity of DNA clustered damages induced by alphas for three different LET.

As in the case of proton irradiations [11], the frequency of the clusters obtained for a given cluster size increases with increasing radiation LET due to a higher track density.

Comparing the cell nuclei, more damages were systematically found for the endothelium cell nuclei for clusters containing between 2 and 8 energy transfer points. Thus, the increase of the DNA density seems to increase the quantity and the complexity of direct clustered damages and can be a factor contributing to the difficulty of the DNA repair. Nevertheless, it is important to remind that our geometrical cell nucleus models are simplified models. The DNA molecule is distributed homogeneously on the two models whereas, in reality, the DNA can be more or less compact in certain regions of the nucleus (euchromatin and heterochromatin regions). A study concerning the influence of the euchromatin/heterochromatin regions is in progress. Thus, in this present work, the purpose is to study the influence of the DNA density, not directly correlate this result to the influence of the cell type.

Concerning the relative frequency between different cluster sizes for different LET, the results show the same trend for the two types of cell nuclei. Table 3 reports the frequency of the DSB_{cond} size depending on the beam particle for two equivalents LET in the endothelium cell nucleus in order to study the influence of the radiation quality.

It can be observed that, for both LET, the number of clusters for a given size was found to be always higher in the case of a proton irradiation.

Table 3. DSB_{cond} per particle and micrometer as a function of the cluster size for two equivalents LET.

Cluster size	~ 40keV/ μ m		~ 26 keV/ μ m	
	Proton	Alpha	Proton	Alpha
2	0.50	0.33	0.38	0.20
3	0.46	0.23	0.30	0.13
4	0.36	0.14	0.20	0.08
5	0.25	0.07	0.12	0.04
6	0.16	0.04	0.07	0.03
7	0.10	0.02	0.04	0.01

For both type of irradiations, 90% of clusters contain between 2 and 7 energy transfer points, the majority of them having small size. Indeed, the clusters containing 2 or 3 points represent more than 47 % of the total number of clusters.

The main difference between the two radiation qualities is the evolution in the size frequency with LET. Indeed, for proton irradiation, the proportion of "small clusters" (containing 2 or 3 points) increases significantly with decreasing LET and "bigger clusters" (containing 4 to 7 points) tend to decrease with decreasing LET. For an alpha irradiation, whatever the LET, the proportion of clusters for a given size is quite stable.

These results could suggest that a proton irradiation induces more complex damages difficult to be repaired compared to an alpha irradiation at equivalent LET.

4. Conclusions

The aim of the present work is to evaluate the influence of the DNA density and the radiation quality for proton and alpha irradiations regarding the number and the complexity of the possible direct damages to DNA. Simulations with proton and alpha beams within two new geometrical target models representing the DNA content of an endothelium and a fibroblast were performed using the Geant4-DNA Monte Carlo code processes. Nevertheless, as the DNA is distributed homogeneously on the nuclei, it is the DNA density which is studied and not the influence of the cell type.

The influence of the DNA density has been studied for protons and alpha irradiations. These results show that the quantity and the complexity of the evaluated potential damages in the endothelium cell nucleus are always higher than in the fibroblast cell nucleus. Regarding the influence of the radiation quality, for an equivalent LET, a proton irradiation induces more direct

complex clustered damages than an alpha irradiation. These results suggest that the DNA density and the radiation quality influence the type and the quantity of damages. Moreover, proton irradiation seems to be more difficult to repair and could increase the radio-induced chromosomal aberrations or cell death compared to an alpha irradiation.

Nevertheless, this study concerns only the direct effects of ionizing radiation. As the computational tools for the simulation of the physico-chemical and the chemical stages needed for the evaluation of indirect effects are under development on Geant4 [14], the methodology presented here will be used to study the total effects on a future work.

Some radiobiological experiments on the two types of cell nuclei studied in this work are in progress in our Institute using proton and alpha beams. In these experiments an immunofluorescence technique is used in order to detect γ -H2AX foci corresponding to radio-induced DSB. The experimental analysis of the cinematic of the foci appearance will help in verifying the conclusions obtained by Monte Carlo simulations presented in this work.

In parallel, a study concerning the influence of the euchromatin and heterochromatin regions is in progress. For this, the shape of chromatin fiber is modified (solenoid chromatin fiber conformation or nucleosomes placed randomly in the volume) in order to evaluate the influence of this parameter in the results of the number and complexity of direct clustered damages induced after protons and alpha irradiations.

References

- [1] D.T. Goodhead, Initial events in the cellular effects of ionizing radiations: clustered damage in DNA, *Int. J. Radiat. Biol.* 65 (1994), pp. 7-17.
- [2] D. Frankenberg, M. Frankenberg-Schwager, D. Blocher and R. Harbich, Evidence for DNA double strand breaks as the critical lesions yeast cells irradiated with sparsely or densely ionizing radiation under oxic or anoxic conditions, *Radiat. Res.* 88 (1981), pp. 524-532.
- [3] S. Agostinelli, J. Allison, K. Amako, J. Apostolakis, H. Araujo, P. Arce, M. Asai, D. Axen, S. Banerjee, G. Barrand, F. Behner, L. Bellagamba, J. Boudreau, L. Broglia, A. Brunengo, H. Burkhardt, S. Chauvie, J. Chuma, R. Chytrcek, G. Cooperman, G. Cosmo, P. Degtyarenko, A. Dell'Acqua, G. Depaola, D. Dietrich, R. Enami, A. Feliciello, C. Ferguson, H. Fesefeldt, G. Folger, F. Foppiano, A. Forti, S. Garelli, S. Giani, R. Giannitrapani, D. Gibin, J.J. Gomez Cadenas, I. Gonzalez, G. Gracia Abril, G. Greeniaus, W. Greiner, V. Grichine, A. Grossheim, S. Guatelli, P. Gumplinger, R. Hamatsu, K. Hashimoto, H. Hasui, A. Heikkinen, A. Howard, V. Ivanchenko, A. Johnson, F.W. Jones, J. Kallenbach, N. Kanaya, M. Kawabata, Y. Kawabata, M. Kawaguti, S. Kelner, P. Kent, A. Kimura, T.

- Kodama, R. Kokoulin, M. Kossov, H. Kurashige, E. Lamanna, T. Lampen, V. Lara, V. Lefebvre, F. Lei, M. Liendl, W. Lockman, F. Longo, S. Magni, M. Maire, E. Medernach, K. Minamimoto, P. Mora de Freitas, Y. Morita, K. Murakami, M. Nagamatsu, R. Nartallo, P. Nieminen, T. Nishimura, K. Ohtsubo, M. Okamura, S. O'Neale, Y. Oohata, K. Paech, J. Perl, A. Pfeiffer, M.G. Pia, F. Ranjard, A. Rybin, S. Sadilov, E. Di Salvo, G. Santin, T. Sasaki, N. Savvas, Y. Sawada, S. Scherer, S. Sei, V. Sirotenko, D. Smith, N. Starkov, H. Stoecker, J. Sulkimo, M. Takahata, S. Tanaka, E. Tcherniaev, E. Safai Tehrani, M. Tropeano, P. Truscott, H. Uno, L. Urban, P. Urban, M. Verderi, A. Walkden, W. Wander, H. Weber, J.P. Wellisch, T. Wenaus, D.C. Williams, D. Wright, T. Yamada, H. Yoshida and D. Zschiesche, GEANT4-a simulation toolkit, *Nucl. Instrum. Methods. Phys. Res. A*. 506 (2003), pp. 250-303.
- [4] J. Allison, K. Amako, J. Apostolakis, H. Araujo, P. Arce Dubois, M. Asai, G. Barrand, R. Capra, S. Chauvie, R. Chytrcek, G. A. P. Cirrone, G. Cooperman, G. Cosmo, G. Cuttone, G. G. Daquino, M. Donszelmann, M. Dressel, G. Folger, F. Foppiano, J. Generowicz, V. Grichine, S. Guatelli, P. Gumplinger, A. Heikkinen, I. Hrivnacova, A. Howard, S. Incerti, V. Ivanchenko, T. Johnson, F. Jones, T. Koi, R. Kokoulin, M. Kossov, H. Kurashige, V. Lara, S. Larsson, F. Lei, O. Link, F. Longo, M. Maire, A. Mantero, B. Mascialino, I. McLaren, P. Mendez Lorenzo, K. Minamimoto, K. Murakami, P. Nieminen, L. Pandola, S. Parlati, L. Peralta, J. Perl, A. Pfeiffer, M. G. Pia, A. Ribon, P. Rodrigues, G. Russo, S. Sadilov, G. Santin, T. Sasaki, D. Smith, N. Starkov, S. Tanaka, E. Tcherniaev, B. Tomé, A. Trindade, P. Truscott, L. Urban, M. Verderi, A. Walkden, J. P. Wellisch, D. C. Williams, D. Wright, and H. Yoshida, Geant4 developments and applications, *IEEE Trans. Nucl. Sci.* 53 (2006), pp. 270-278.
- [5] C. Villagrasa, Z. Francis and S. Incerti, Physical models implemented in the GEANT4-DNA extension of the GEANT4 toolkit for calculating initial radiation damage at the molecular level, *Radiat. Prot. Dosim.* 143 (2011), pp. 214-218.
- [6] S. Incerti, A. Ivanchenko, M. Karamitros, A. Mantero, P. Moretto, H. N. Tran, B. Mascialino, C. Champion, V. N. Ivanchenko, M. A. Bernal, Z. Francis, C. Villagrasa, G. Baldacchino, P. Guèye, R. Capra, P. Nieminen and C. Zacharatos, Comparison of GEANT4 very low energy cross section models with experimental data in water, *Med. Phys.* 37 (2010), pp. 4692-4708.
- [7] Z. Francis, S. Incerti, M. Karamitros, H.N. Tran and C. Villagrasa, Stopping power and ranges of electrons, protons and alpha particles in liquid water using the GEANT4-DNA package, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B*. 269 (2011), pp.2307-2311.
- [8] Z. Francis, S. Incerti, R. Capra, B. Mascialino, G. Montarou, V. Stepan and C. Villagrasa, Molecular track scale structure simulations in liquid water using the GEANT4-DNA Monte Carlo code processes, *Appl. Radiat. Isot.* 69 (2011), pp. 220-226.
- [9] W. Friedland, P. Jacob, H.G. Paretzke and T. Stork, Monte Carlo simulation of the production of short DNA fragments by low linear energy transfer radiation using higher order DNA models, *Radiat. Res.* 150 (1998), pp. 170-182.
- [10] W. Friedland, M. Dingfelder, P. Kundrat and P. Jacob, Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC, *Mutat. Res.* 711 (2011), pp. 28-40.
- [11] M. Dos Santos, C. Villagrasa, I. Clairand and S. Incerti, Influence of the DNA density in the number of clustered damages created by protons of different energies, accepted in *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B*.
- [12] Z. Francis, C. Villagrasa and I. Clairand, Simulation of DNA damage algorithm after proton irradiation using and adapted DBSCAN algorithm, *Comput. Methods. Programs Biomed.* 101 (2011), pp. 265-670.
- [13] Z. Francis, S. Incerti, V. Ivanchenko, C. Champion, M. Karamitros, M. A. Bernal and Z. El Bitar, Monte Carlo simulation of energy deposit clustering for ions of the same LET in liquid water, *Phys. Med. Biol.* 57 (2012), pp. 209-224.
- [14] M. Karamitros, A. Mantero, S. Incerti, G. Baldacchino, P. Barberet, M. Bernal, R. Capra, C. Champion, Z. El Bitar, Z. Francis, W. Friedland, P. Guèye, A. Ivanchenko, V. Ivanchenko, H. Kurashige, B. Mascialino, P. Moretto, P. Nieminen, G. Santin, H. Seznec, H. N. Tran, C. Villagrasa and Z. Zacharatos, Modelling radiation chemistry in the GEANT4 toolkit, *Nucl. Sci. Tech.* 2 (2011) 503-508.